

# **Untersuchungen zum Einfluss von Layer-by-Layer-Beschichtungen auf die Freisetzung hydrophiler Wirkstoffe**

von

**Sarah Vermeeren**

Hochschule Bonn-Rhein-Sieg  
Fachbereich Angewandte Naturwissenschaften

Zur Erlangung des akademischen Grades

**Master of Science**

in

**Analytische Chemie und  
Qualitätssicherung**

Erstprüfer: Prof. Dr. Margit Schulze

Zweitprüfer: MSc. Markus Witzler

2019

<https://doi.org/10.18418/opus-4722>

Prof. Dr. Margit Schulze

---

Erstprüfer

M.Sc. Markus Witzler

---

Zweitprüfer

Prof. Dr. Heinz-Joachim Häbler

---

Prüfungsausschussvorsitzender

---

Vorgelegt am

## Eigenständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Masterthese ohne fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Alle Teile, die wörtlich oder sinngemäß einer Veröffentlichung entstammen, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde noch nicht veröffentlicht oder einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

---

Ort, Datum, Unterschrift

## Danksagung

Zu allererst möchte ich mich herzlich bei Frau Prof. Dr. Margit Schulze für die gute fachliche Betreuung und Beratung während der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Zudem gilt mein besonderer Dank Herrn M.Sc. Markus Witzler, der mir sowohl bei der praktischen Arbeit als auch bei fachlichen Aspekten stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Auch bei den restlichen Mitgliedern der Arbeitsgruppe möchte ich mich aufrichtig für die tolle Zusammenarbeit und die hervorragende Arbeitsatmosphäre bedanken.

Abschließend bedanke ich mich bei meinen Freunden für ihre große Unterstützung und Motivation während der Anfertigung dieser Arbeit.

Mechernich, August 2019

## Zusammenfassung – Abstract

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung eines, für die kontrollierte Freisetzung hydrophiler Wirkstoffe geeigneten, Verkapselungssystems mit dem Ziel die Freisetzung osteospezifischer P2-Liganden zu verzögern, um bei der Behandlung von Knochendefekten kritischer Größe die Bildung neuen Knochengewebes zu gewährleisten. Hierfür werden, unter Anwendung der immersiven Layer-by-Layer-Beschichtung (LbL), mit den Modell-Substanzen Adenosintriphosphat (ATP) und Suramin (SU) versetzte, Alginat- sowie  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln mit Chitosan (CS) und Lignosulfonat (LS) beschichtet und auf ihr Freisetzungsverhalten hin untersucht.

Es zeigt sich, durch die Anwendung geeigneter Freisetzungsmodelle, dass die Freisetzung ATPs und SUs aus Alginat-Kapseln mit steigender LbL-Schichtanzahl erfolgreich verzögert werden kann. Für die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln sollte der Versuchszeitraum von zwei Wochen verlängert werden, um eine exakte Schlussfolgerung über das Freisetzungsverhalten mit unterschiedlicher Layer-Anzahl ziehen zu können.

This study deals with the development of a suitable encapsulation system for hydrophilic drugs, in order to delay the release of osteo specific P2-ligands which are used to ensure the formation of bone tissue for the treatment of critical bone defects. Therefore, alginate- and  $\kappa$ -carageenan-capsules filled with the model drugs adenosine triphosphate (ATP) and suramin (SU) are coated with chitosan (CS) and lignosulfonate (LS) by the immersive layer-by-layer-technique (LbL) and are analyzed in terms of their release behavior.

By using proper release models, it can be seen that the release of ATP and SU from alginate-capsules can be sustained successfully with increasing the number of layers. For the  $\kappa$ -carageenan-capsules the release period of two weeks should be extended in order to draw a correct conclusion regarding the release behavior with different number of layers.

# Inhaltsverzeichnis

|                                                  |     |
|--------------------------------------------------|-----|
| Zusammenfassung – Abstract .....                 | III |
| Inhaltsverzeichnis .....                         | IV  |
| Abkürzungsverzeichnis.....                       | VI  |
| Tabellenverzeichnis .....                        | VII |
| Abbildungsverzeichnis.....                       | IX  |
| 1    Einleitung .....                            | 1   |
| 1.1    Knochendefekte kritischer Größe .....     | 1   |
| 1.2    Problemstellung und Ziel der Arbeit ..... | 1   |
| 2    Stand der Technik.....                      | 2   |
| 2.1    Verkapselungssysteme .....                | 2   |
| 2.1.1    Alginat.....                            | 2   |
| 2.1.2    Carrageen .....                         | 3   |
| 2.1.3    Chitosan .....                          | 4   |
| 2.2    Layer-by-Layer-Beschichtung .....         | 5   |
| 2.3    Release-Profile .....                     | 9   |
| 2.3.1    Korsmeyer-Peppas-Modell .....           | 10  |
| 2.3.2.    Peppas-Sahlin-Modell.....              | 11  |
| 2.3.3    Weibull-Modell.....                     | 12  |
| 2.3.4    Two-Site-Bind-Modell.....               | 13  |
| 3    Experimenteller Teil.....                   | 14  |
| 3.1    Geräte und Chemikalien.....               | 14  |
| 3.1.1    Geräte .....                            | 14  |
| 3.1.2    Chemikalien .....                       | 15  |
| 3.2    Durchführung .....                        | 16  |

|       |                                                          |    |
|-------|----------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1 | Herstellung der ATP- und Suramin-Kalibrierlösungen ..... | 16 |
| 3.2.2 | Kapselherstellung.....                                   | 16 |
| 3.2.3 | Layer-by Layer-Beschichtung.....                         | 19 |
| 3.2.4 | Release-Versuche.....                                    | 20 |
| 4     | Ergebnisse und Diskussion.....                           | 21 |
| 4.1   | Kalibrationsgeraden .....                                | 21 |
| 4.2   | Kapselherstellung .....                                  | 22 |
| 4.3   | Layer-by-Layer-Beschichtung .....                        | 23 |
| 4.4   | Release-Versuche .....                                   | 25 |
| 4.4.1 | ATP-Release .....                                        | 28 |
| 4.4.2 | Suramin-Release .....                                    | 39 |
| 5     | Schlussfolgerung und Ausblick.....                       | 44 |
|       | Literaturverzeichnis .....                               | 46 |
|       | Anhang.....                                              | 49 |
| (A)   | Rohdaten Kalibrationsgeraden .....                       | 49 |
| (B)   | Rohdaten der $\zeta$ -Potentialmessungen .....           | 50 |
| (C)   | Rohdaten der Freisetzungsversuche .....                  | 51 |
| (D)   | Werte der Freisetzungsmodelle.....                       | 57 |

## Abkürzungsverzeichnis

| Abkürzung | Bedeutung                             |
|-----------|---------------------------------------|
| Alg       | Alginat                               |
| ATP       | Adenosin-5'-triphosphat-Dinatriumsalz |
| Carr      | Carrageen                             |
| CS        | Chitosan                              |
| HA        | Hydroxylapatit                        |
| LbL       | Layer-by-Layer                        |
| LS        | Lignosulfonat                         |
| rpm       | Revolutions per minute                |
| slpm      | Standardliter pro Minute              |
| SU        | Suramin                               |



## Tabellenverzeichnis

|                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabelle 1: Freisetzungsmechanismen des Korsmeyer-Peppas-Modells .....                                                                      | 10 |
| Tabelle 2: Verwendete Geräte .....                                                                                                         | 14 |
| Tabelle 3: Verwendete Chemikalien.....                                                                                                     | 15 |
| Tabelle 4: Kalibrationsniveaus von ATP und Suramin .....                                                                                   | 16 |
| Tabelle 5: Einwaagen von $\kappa$ -Carrageen und Alginat für die Kapselherstellung .....                                                   | 16 |
| Tabelle 6: Herstellung der wirkstoffversetzten Kapsellösungen .....                                                                        | 17 |
| Tabelle 7: Herstellung der mit wirkstoffversetzten Aushärtelösungen .....                                                                  | 17 |
| Tabelle 8: Chitosan und Lignosulfonat Einwaagen für die LbL-Beschichtung .....                                                             | 19 |
| Tabelle 9: Kapseleinwaagen der Release-Versuche .....                                                                                      | 20 |
| Tabelle 10: Partikelgrößenverteilung der Alginat- und $\kappa$ -Carrageen-Kapseln .....                                                    | 23 |
| Tabelle 11: $\zeta$ -Potential-Messungen der Alginat- bzw. $\kappa$ -Carrageen-Kapseln .....                                               | 23 |
| Tabelle 12: $R^2$ der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten<br>ATP-Freisetzung aus Alg-Kapseln .....               | 28 |
| Tabelle 13: $R^2$ der mathematischen Modelle für die Release-Profile der relativen ATP-<br>Freisetzung aus Alg-Kapseln .....               | 31 |
| Tabelle 14: $R^2$ der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten<br>ATP-Freisetzung aus $\kappa$ -Carr-Kapseln .....    | 33 |
| Tabelle 15: $R^2$ der mathematischen Modelle für die Release-Profile der relativen ATP-<br>Freisetzung aus $\kappa$ -Carr-Kapseln .....    | 36 |
| Tabelle 16: $R^2$ der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten<br>Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln .....            | 39 |
| Tabelle 17: $R^2$ der mathematischen Modelle für die Release-Profile der relativen<br>Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln .....             | 41 |
| Tabelle 18: $R^2$ der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten<br>Suraminfreisetzung aus $\kappa$ -Carr-Kapseln ..... | 42 |
| Tabelle 19: Absorptionswerte der Kalibrationsgeraden .....                                                                                 | 49 |

|                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabelle 20: Ergebnisse der $\zeta$ -Potentialmessungen.....                          | 50 |
| Tabelle 21: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 0LbL.....              | 51 |
| Tabelle 22: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 1LbL.....              | 51 |
| Tabelle 23: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 5LbL.....              | 52 |
| Tabelle 24: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 10LbL.....             | 52 |
| Tabelle 25: Rohdaten der Freisetzungsversuche für Suramin-Alginat 0LbL.....          | 53 |
| Tabelle 26: Rohdaten der Freisetzungsversuche für Suramin-Alginat 5LbL.....          | 53 |
| Tabelle 27: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP- $\kappa$ -Carrageen 0LbL.....     | 54 |
| Tabelle 28: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP- $\kappa$ -Carrageen 1LbL.....     | 54 |
| Tabelle 29: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP- $\kappa$ -Carrageen 5LbL.....     | 55 |
| Tabelle 30: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP- $\kappa$ -Carrageen 10LbL.....    | 55 |
| Tabelle 31: Rohdaten der Freisetzungsversuche Suramin- $\kappa$ -Carrageen 0LbL..... | 56 |
| Tabelle 32: Rohdaten der Freisetzungsversuche Suramin- $\kappa$ -Carrageen 5LbL..... | 56 |
| Tabelle 33: Werte der Freisetzungsmodelle Weibull und Korsmeyer-Peppas.....          | 57 |
| Tabelle 34: Werte der Freisetzungsmodelle Peppas-Sahlin und Two-Site-Bind.....       | 58 |

## Abbildungsverzeichnis

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abbildung 1: Aufbau von M- und G-Blöcken in der Alginat-Struktur .....                              | 2  |
| Abbildung 2: "Egg-Box"-Modell der Vernetzung von Alginat-Ketten .....                               | 3  |
| Abbildung 3: Strukturformel von $\kappa$ -Carrageen .....                                           | 4  |
| Abbildung 4: Strukturformel von Chitosan .....                                                      | 4  |
| Abbildung 5: Schematische Darstellung der Komplexierung von Polyelektrolyten. ....                  | 6  |
| Abbildung 6: Variationen an geeigneten Substraten und Layer-Materialien .....                       | 6  |
| Abbildung 7: Schematische Darstellung der immersiven Beschichtungstechnik. ....                     | 7  |
| Abbildung 8: Schematische Darstellung der LbL-Beschichtung via Spinning. ....                       | 7  |
| Abbildung 9: Schematische Darstellung der LbL-Beschichtung via Spraying. ....                       | 8  |
| Abbildung 10: Schematische Darstellung der elektromagnetischen LbL-Beschichtung. ....               | 8  |
| Abbildung 11: Strukturformel von Lignosulfonat .....                                                | 9  |
| Abbildung 12: Aufbau der Vernebelungsapparatur .....                                                | 18 |
| Abbildung 13: Kalibrationsgeraden der UV-Vis-Messungen .....                                        | 21 |
| Abbildung 14: Mikroskopische Untersuchung Alginat- und $\kappa$ -Carrageen-Kapseln .....            | 22 |
| Abbildung 15: $\zeta$ -Potential der LbL-Schichten .....                                            | 24 |
| Abbildung 16: Release-Profile der normierten ATP-Freisetzung aus Alg-Kapseln .....                  | 30 |
| Abbildung 17: Release-Profile der relativen ATP-Freisetzung aus Alg-Kapseln .....                   | 32 |
| Abbildung 18: Release-Profile der normierten ATP-Freisetzung aus $\kappa$ -Carr-Kapseln ..          | 34 |
| Abbildung 19: Release-Profile der relativen ATP-Freisetzung aus $\kappa$ -Carr-Kapseln .....        | 38 |
| Abbildung 20: Release-Profile der normierten Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln ...                 | 40 |
| Abbildung 21: Release-Profile der relativen Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln .....                | 41 |
| Abbildung 22: Release-Profile der normierten Suraminfreisetzung aus $\kappa$ -Carr-Kapseln<br>..... | 43 |

# 1 Einleitung

## 1.1 Knochendefekte kritischer Größe

Spricht ein Mediziner von einem Knochendefekt kritischer Größe, so ist damit gemeint, dass der Körper selbst nicht mehr in der Lage ist, diesen ohne äußere Hilfe zu heilen. Die Behandlung solcher Defekte stellt auch in der heutigen Medizin noch eine Herausforderung dar, aufgrund von zeitaufwendigen Operationen und langer Rehabilitationsphasen.<sup>1,2</sup> Die Entwicklung eines personalisierten Knochenersatzmaterials für die Behandlung oben beschriebener Knochendefekte soll hier Abhilfe schaffen. Das Trägermaterial besteht aus Agarose und Hydroxyapatit, welche beide sowohl biokompatibel als auch biologisch abbaubar sind. Durch die Eigenschaft der Zellanhaftung des Hydroxylapatits lassen sich dem Trägermaterial patienteneigene Stammzellen hinzufügen, die durch Zugabe osteospezifischer Liganden (P2-Liganden) zu Osteoblasten, d.h. zu knorpelgebildenden Zellen, umgewandelt werden.

## 1.2 Problemstellung und Ziel der Arbeit

Bei den meisten P2-Liganden handelt es sich um hydrophile Liganden, d.h. sie werden im wässrigen Medium, z.B. im Körper, schnell freigesetzt. Damit die patienteneigenen Stammzellen allerdings zu Osteoblasten umgewandelt werden können, müssen diese über einen längeren Zeitraum mit den entsprechenden P2-Liganden versorgt werden, weshalb die Freisetzung dieser kontrolliert erfolgen muss.

Diese Arbeit befasst sich mit der Entwicklung eines geeigneten Verkapselungssystems für die P2-Liganden. Dabei liegt der Fokus sowohl auf der Herstellung der Kapsel als Basis, als auch auf einer anschließenden Layer-by-Layer-Beschichtung der Kapsel, um die Freisetzung des Liganden zusätzlich hinauszuzögern.

Mit Hilfe von Adenosintriphosphat (ATP) und Suramin (SU) als Modellschichten für P2-Liganden wird die Eignung der Verkapselungsmaterialien Alginat (Alg) und Carrageen (Carr) im Hinblick auf die Wirkstofffreisetzung analysiert. Zudem wird die Verzögerung der Wirkstofffreisetzung mit Variation der Layer-by-Layer-Schichtanzahl untersucht, wobei als Layer-Materialien Chitosan (CS) und Lignosulfonat (LS) verwendet werden.

## 2 Stand der Technik

### 2.1 Verkapselungssysteme

Für die Herstellung eines für die kontrollierte Wirkstofffreisetzung geeigneten Verkapselungssystems können verschiedene Substanzen als Basismaterial verwendet werden. Häufig werden z.B. Mizellen aus amphiphilen Polymeren hergestellt, da sie in einem geeigneten Medium eine sogenannte Core-Shell-Struktur ausbilden.<sup>3</sup> Auch Liposome, also sphärische Vesikel mit einer lipiden Doppelmembran können für Wirkstoffverkapselungen verwendet werden.<sup>4</sup> Immer häufiger an Bedeutung gewinnen zudem natürlich vorkommende Polysaccharide bei der Entwicklung von Verkapselungssystemen, wobei in folgenden Unterkapiteln auf die wichtigsten eingegangen wird.

#### 2.1.1 Alginat

Das hauptsächlich aus Braunalgen gewonnene Alginat ist ein anionisches Polysaccharid, bestehend aus in Blöcken angeordneten Monomer-Einheiten der 1,4'- $\beta$ -D-Mannuronsäure (M-Blöcke) und der  $\alpha$ -L-Guluronsäure (G-Blöcke) (Abbildung 1).<sup>5-9</sup>

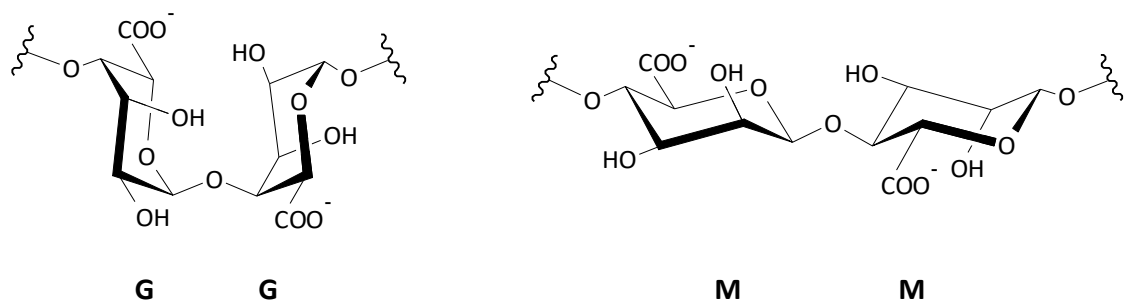


Abbildung 1: Aufbau von M- und G-Blöcken in der Alginat-Struktur

Aufgrund seiner Biokompatibilität findet das Alginat häufig Anwendung in der Biochemie. Vor allem bei der Verkapselung von Wirkstoffen, Pestiziden sowie Zellen dient Alginat als Basismaterial für die Kapselherstellung.<sup>5-10</sup> Durch ionische Gelierung mittels multivalenter Kationen (meist Ca<sup>2+</sup>-Ionen) findet eine Vernetzung der einzelnen Alginat-Ketten statt. Diese Vernetzung wird anhand des sogenannten „Egg-Box“-Modells veranschaulicht (Abbildung 2). Die Ca<sup>2+</sup>-Ionen bilden mit den anionischen Carboxy-Gruppen

der G-Blöcke eine koordinative Bindung aus, wodurch einzelne Alginat-Ketten miteinander vernetzt werden und somit eine dreidimensionale Gelstruktur entsteht. Die Vorteile von Alginat liegen in seiner kommerziellen Verfügbarkeit sowie seiner einfachen Handhabung.<sup>5,6,10,11</sup>

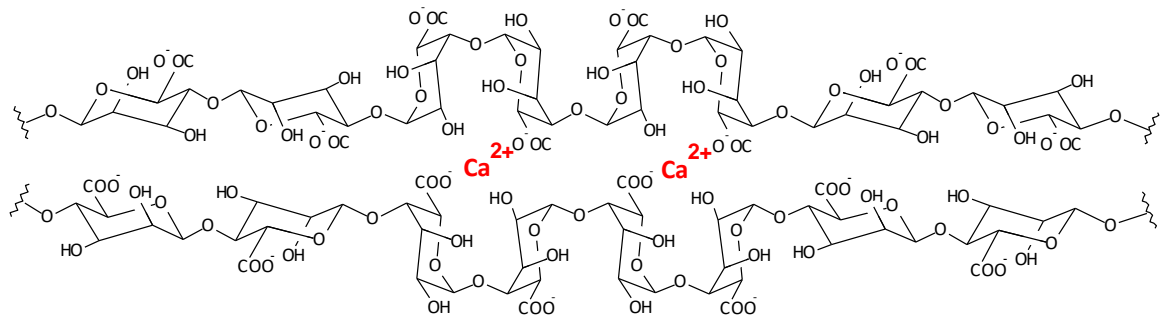


Abbildung 2: "Egg-Box"-Modell der Vernetzung von Alginat-Ketten mittels  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen

### 2.1.2 Carrageen

Carrageene sind aus Seegras gewonnene hydrophile anionische Polysaccharide bestehend aus sich wiederholenden D-Galactose und 3,6-anhydro-D-Galactose Einheiten, die über alternierende  $\alpha$ -1,3 und  $\beta$ -1,4 glycosidische Bindungen verknüpft sind (Abbildung 3). Sie werden anhand ihrer vorhandenen Sulfatgruppen und deren Position in verschiedene Klassen unterteilt:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\kappa$ -,  $\lambda$ -,  $\iota$ - und  $\theta$ -Carrageene.<sup>12-14</sup> Ihre Eigenschaften ähneln denen des Alginats. Sie sind biokompatibel und bilden vorzugsweise mit monovalenten Kationen z.B. Kalium-Ionen Gelstrukturen aus, daher werden sie vor allem in der Pharmazie, aber auch in der Lebensmittelindustrie als Verdickungs-, Gelierungs- und Stabilisierungsmittel verwendet.<sup>12,14,15</sup> Die Gelierung erfolgt durch koordinative Bindungen zwischen den monovalenten Kationen und den Sulfatgruppen der Polysaccharid-Ketten, wodurch sich die vorher im ungeordneten Knäuel vorliegenden Ketten zu einer Helix-Struktur miteinander vernetzen. Für die Anwendung als Verkapselungsmaterial eignet sich  $\kappa$ -Carrageen besonders aufgrund der einfachen Handhabung. Ein großer Nachteil jedoch ist dessen Temperaturabhängigkeit, wodurch die Stabilität der Kapseln beeinflusst wird.<sup>16,17</sup>

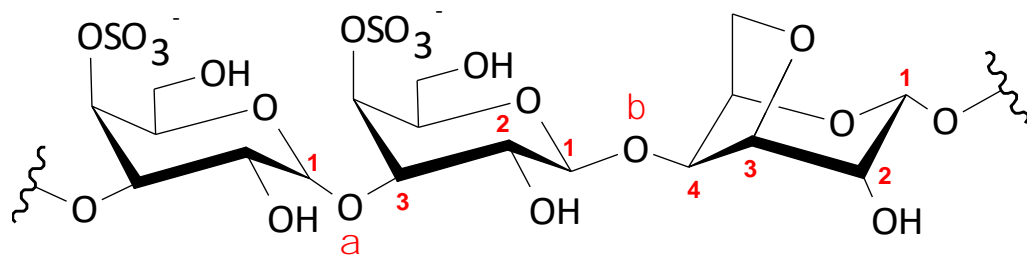


Abbildung 3: Strukturformel von  $\kappa$ -Carrageen mit  $\alpha$ -1,3 und  $\beta$ -1,4 glycosidischer Bindung

### 2.1.3 Chitosan

Chitosan ist ein kationisches Polysaccharid, das durch Deacetylierung des natürlich vorkommenden Chitins gewonnen wird. Es besteht sowohl aus Glucosamin als auch aus N-Acetylglucosamin Einheiten, die über eine  $\beta$ -1,4 glycosidische Bindung miteinander verbunden sind (Abbildung 4). Dabei hängt das Verhältnis der Einheiten vom Deacetylierungsgrad des Chitosans ab: Je höher der Deacetylierungsgrad, desto höher der Anteil an Glucosamin Einheiten.<sup>18–21</sup>

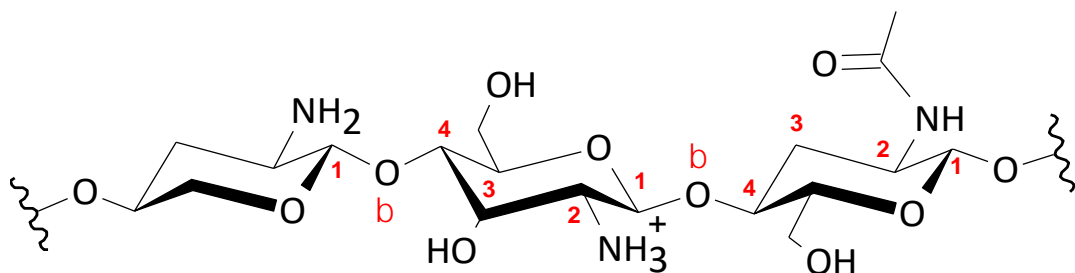
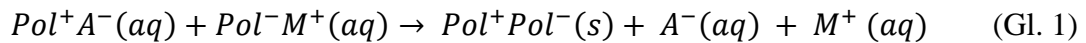


Abbildung 4: Strukturformel von Chitosan mit  $\beta$ -1,4 glycosidischer Bindung

Chitosan gewinnt in der pharmazeutischen Industrie immer größere Bedeutung, da es wie Alginat und Carrageen biokompatibel und durch ionische Gelierung für die Verkapselung von Wirkstoffen benutzt werden kann. Der Gelierungsprozess ist ähnlich dem des Alginate und der Carrageene, mit dem Unterschied, dass für die Vernetzung der Polysaccharid-Ketten mono- bzw. multivalente Anionen benötigt werden. Charakteristisch für Chitosan ist dessen pH-Abhängigkeit. Es ist schlecht löslich im pH neutralen sowie im basischen Medium und gut löslich in saurem Milieu. Da es nur im sauren Medium als Polykation vorliegt, ist eine ionische Gelierung im basischen Milieu nicht möglich.<sup>18–22</sup>

## 2.2 Layer-by-Layer-Beschichtung

Unter der sogenannten Layer-by-Layer-Technik (LbL) wird eine Adsorption von gegensätzlich geladenen Polyelektrolyten z.B. Polymere, Kolloide, Biomoleküle oder auch Zellen auf einem oberflächengeladenen Substrat verstanden.<sup>23–25</sup> Die Adsorption erfolgt durch die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Polyelektrolyten bzw. zwischen Substrat und Polyelektrolyt. Diese Wechselwirkungen lassen sich wiederum in entropische (Verlust des Gegenions) sowie enthalpische Interaktionen (Coulombsche Wechselwirkung) unterteilen. Eine exemplarische Darstellung der Wechselwirkungen ist in Gleichung 1 dargestellt.<sup>26</sup>



Hierbei sei  $Pol^+$  ein positiv geladenes Polyelektrolyt,  $Pol^-$  ein negativ geladenes Polyelektrolyt,  $A^-$  ein Anion der Elektrolytlösung und  $M^+$  ein Kation der Elektrolytlösung.

Befinden sich elektrisch geladene Polyelektrolyte in Lösung (z.B. Salzlösung), so bildet sich eine ionische Atmosphäre aus Gegenionen um diese herum aus. Dabei werden Ionen aus dem Inneren der Lösung entzogen und ordnen sich entlang der Polyelektrolytketten an. Dieser Prozess führt zu einem Entropieverlust (durch Reduktion der solvatisierten Ionen) sowie zu einem Gewinn an Enthalpie  $\Delta H_{atm}$  durch das Paaren von gegensätzlich geladenen Ionen. Befinden sich sowohl anionische als auch kationische Polyelektrolyte in Lösung, so hebt sich die ionische Atmosphäre aus Gegenionen auf und es paaren sich die gegensätzlich geladenen Polyelektrolyte (Komplexierung der Polyelektrolyte). Dieser Vorgang ist mit einem Enthalpie-Verlust  $-\Delta H_{atm}$  und einem Entropieanstieg, aufgrund der Aufhebung der ionischen Atmosphäre, aber auch mit einer Enthalpie-Gewinnung  $\Delta H_{pair}$  (aufgrund der Komplexierung) verbunden. Die Netto-Enthalpie, die bei der Komplexierung der Polyelektrolyte entsteht, nennt sich  $\Delta H_{PEC}$ . Schematisch ist dieser Prozess in Abbildung 5 dargestellt.<sup>26</sup>



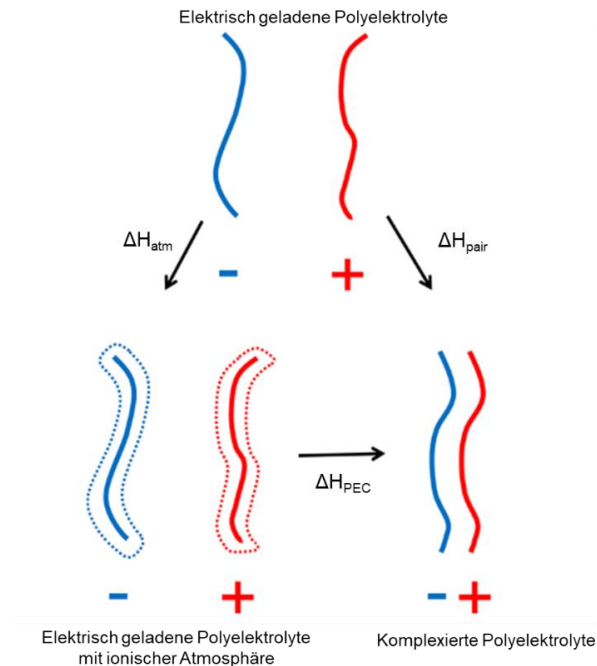


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Komplexierung von Polyelektrolyten. Modifiziert aus <sup>26</sup>.

Die LbL-Technik findet aufgrund der zahlreichen Variationen an Substraten sowie Layer-Materialien (Abbildung 6) in vielen Bereichen Verwendung. Die für die Beschichtung genutzten Substrate können nicht nur nach Arten, z.B. Partikel oder Membranen, sondern auch anhand ihrer Beschaffenheit, z.B. Porosität oder Form, unterschieden werden. Als Layer-Materialien können sowohl biologische als auch synthetische Polyelektrolyte verwendet werden, z.B. Proteine oder Polymere.<sup>27,28</sup>

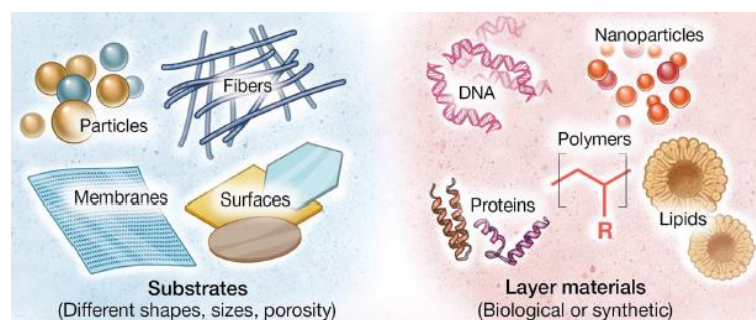


Abbildung 6: Variationen an geeigneten Substraten und Layer-Materialien für die LbL-Technik. Modifiziert aus <sup>27</sup>.

Die Auswahl der Technik für die Schicht-Aufbringung stellt ebenfalls ein Kriterium für mögliche Einsatzgebiete dar. Dabei kann in vier Haupt-Techniken differenziert werden: Immersive Beschichtung, Spinning, Spraying sowie elektromagnetische Beschichtung.

Die immersive Beschichtungstechnik stellt die kommerziellste Art der LbL-Beschichtung dar. Hierbei wird das Substrat in die gewünschte Polyelektrolytlösung und anschließend in eine Waschlösung getaucht, um die nicht an der Oberfläche gebundenen Polyelektrolyte abzuwaschen. Dieser Vorgang kann beliebig oft und mit verschiedenen Polyelektrolyten wiederholt werden, bis die gewünschte Layer-Anzahl erreicht ist (Abbildung 7). Der Hauptvorteil dieser Methode ist die einfache Umsetzung, da keine speziellen Geräte oder Versuchsaufbauten für die Beschichtung notwendig sind. Nachteilig ist jedoch, dass weder die Dicke der Polyelektrolytschicht, noch die gleichmäßige Beschichtung kontrolliert werden kann.<sup>24,25,27,29,30</sup>

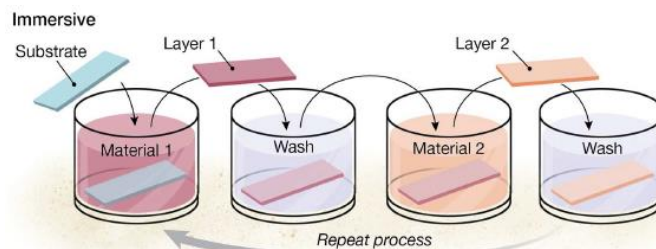


Abbildung 7: Schematische Darstellung der immersiven Beschichtungstechnik. Modifiziert aus <sup>27</sup>.

Die LbL-Beschichtung mittels Spin-Technik ist in Abbildung 8 schematisch dargestellt. Hierbei wird z.B. durch die Verwendung eines Spin-Coaters auf ein sich drehendes Substrat das gewünschte Layer-Material aufgetragen. Durch die Rotation wird das Material gleichmäßig auf der Substratoberfläche verteilt, wobei die Drehzahl ausschlaggebend für die Dicke des Films ist: Je höher die Drehzahl, desto dünner der Film. Es lassen sich also mit der Spin-Methode sowohl dünnere als auch gleichmäßigere Beschichtungen herstellen, als mit der immersiven Beschichtungstechnik. Allerdings lassen sich mit dieser Methode lediglich flache Substrate beschichten.<sup>27,31,32</sup>

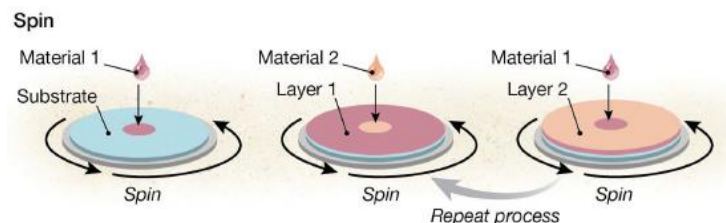


Abbildung 8: Schematische Darstellung der LbL-Beschichtung via Spinning. Modifiziert aus <sup>27</sup>.

Die LbL-Beschichtung mittels Spray-Technik wird vor allem industriell für die Beschichtung großer Substrate verwendet, da die Auftragung einfach und schnell erfolgt. Für

kleine Substrate wird jedoch die kostengünstigere immersive Beschichtungstechnik bevorzugt. Bei dieser Technik wird die für die Beschichtung verwendete Polyelektrolytlösung vernebelt und anschließend auf das Substrat aufgesprüht, wodurch ein feiner und gleichmäßiger Film entsteht. Dabei ist zwischen jeder aufgetragenen Schicht ein Waschschritt vorzunehmen (Abbildung 9).<sup>27,33</sup>

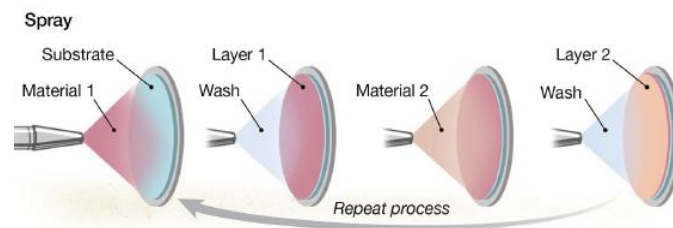


Abbildung 9: Schematische Darstellung der LbL-Beschichtung via Spraying. Modifiziert aus <sup>27</sup>.

Bei der elektromagnetischen LbL-Beschichtung wird eine elektrische Spannung an zwei sich in der Polyelektrolytlösung befindenden Elektroden angebracht, wodurch diese mit dem Polyelektrolyt beschichtet werden. Wie auch bei der immersiven und der Spray-Technik ist zwischen den einzelnen Schichten ein Waschvorgang erforderlich (Abbildung 10). Ein großer Vorteil der elektromagnetischen Beschichtungsmethode ist die Zeiterparnis, da die Schichten binnen Sekunden aufgetragen werden können. Zudem kann die Dicke der Schicht kontrolliert werden, denn je länger das Substrat dem elektrischen Feld ausgesetzt ist, desto dicker wird die Polyelektrolytschicht. Ein großer Nachteil der Methode ist jedoch die Anschaffung spezieller Geräte, um diese Beschichtungstechnik anzuwenden, wodurch sie im Vergleich teurer als z.B. die immersive Beschichtung ist. Zudem müssen die Substrate elektrisch leitend sein, damit die Technik angewendet werden kann.<sup>27,34</sup>

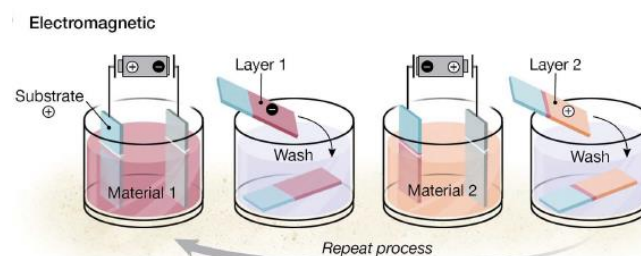


Abbildung 10: Schematische Darstellung der elektromagnetischen LbL-Beschichtung. Modifiziert aus <sup>27</sup>.

Durch die verschiedenen Beschichtungsmethoden, sowie die zahlreichen Auswahlmöglichkeiten an Substraten und Layer-Materialien findet die LbL-Technik in nahezu allen

industriellen Bereichen Anwendung. Vor allem jedoch in der pharmazeutischen Industrie ist die Technik aufgrund von biokompatiblen Layer-Materialien sehr verbreitet z.B. für die Herstellung von semipermeablen Membranen oder die kontrollierte Wirkstofffreisetzung aus Kapselmaterialien.<sup>27,33,35</sup> Beispiele für biokompatible Layer-Materialien sind Alginat, Chitosan und Carrageen, deren Eigenschaften bereits in Kapitel 2.1 erläutert wurden. Ein weiteres Polyelektrolyt, welches bei der Beschichtung von Verkapselungssystemen an Bedeutung gewinnt, ist Lignosulfonat, ein Derivat von Lignin, dass bei der Cellulose-Gewinnung aus Holz als Nebenprodukt entsteht.<sup>24,29,36</sup> Es ist ein wasserlösliches anionisches Polyelektrolyt und besteht aus einer hydrophoben Hauptkette sowie sich daran befindenden hydrophilen Gruppen z.B. Sulfonat- und phenolische Hydroxygruppen (Abbildung 11).<sup>29</sup> Es besitzt antioxidative Eigenschaften, ist biologisch abbaubar und kommerziell einfach sowie günstig zu erwerben. Nachteilig ist jedoch seine UV-Aktivität, die die quantitative Bestimmung der Freisetzung von UV-aktiven Substanzen, wie z.B. ATP und Suramin erschwert.<sup>24</sup>

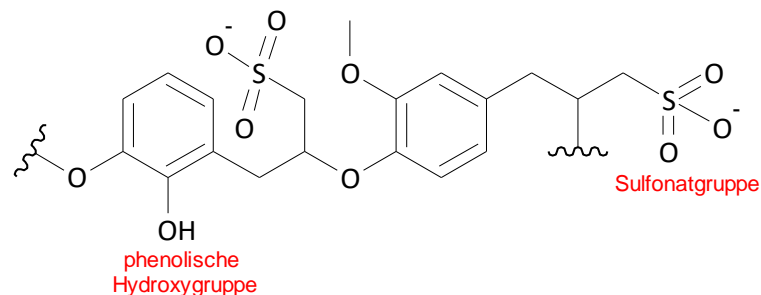


Abbildung 11: Strukturformel von Lignosulfonat

## 2.3 Release-Profile

Die Wirkstofffreisetzung aus Verkapselungssystemen ist ein kinetischer Prozess. Er kann nach nullter Ordnung mit konstanter Freisetzungsgeschwindigkeit oder nach erster Ordnung mit einer Reaktionsgeschwindigkeit, die abhängig von der Wirkstoffkonzentration ist, stattfinden. Jedoch kann die Wirkstofffreisetzung auch anomal, beispielsweise mit einer rapiden Freisetzung zu Beginn, dem sogenannten Burst-Release, und einer darauffolgenden kontrollierten Freisetzung nach nullter oder erster Ordnung, erfolgen. Dabei beeinflussen verschiedene Prozesse die Art der Freisetzung, wobei bei hydrophilen Substanzen und Polymer-Systemen hauptsächlich Diffusionsprozesse, Quellung und Relaxation der Polymerketten sowie elektrostatische Wechselwirkungen entscheidend für das

Freisetungsverhalten sind. Für die Beschreibung von Release-Profilen werden häufig nicht lineare mathematische Modelle angewendet.<sup>37</sup> In den folgenden Unterkapiteln werden die für die Release-Profile von ATP bzw. Suramin aus Alginat- sowie  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln geeigneten mathematischen Modelle erläutert.

### 2.3.1 Korsmeyer-Peppas-Modell

Das Korsmeyer-Peppas-Modell wurde 1983 von Korsmeyer, Gurny, Doelker, Buri und Peppas entwickelt. Es stellt einen exponentiellen Zusammenhang zwischen freigesetzter Substanz und der Zeit dar und kann mit Gleichung 2 beschrieben werden:<sup>37,38</sup>

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n \quad (\text{Gl. 2})$$

Dabei sei  $M_t$  die freigesetzte Stoffmenge der Substanz zum Zeitpunkt  $t$ ,  $M_\infty$  die freigesetzte Stoffmenge der Substanz im Gleichgewichtszustand,  $K$  die Geschwindigkeitskonstante der Freisetzung,  $t$  die Zeit und  $n$  der Freisetzungsexponent.<sup>37–39</sup> In die Geschwindigkeitskonstante  $K$  fließen alle strukturellen und geometrischen Eigenschaften des Systems, die Einfluss auf die Freisetzung ausüben, ein, während der Freisetzungsexponent  $n$  Auskunft über den Freisetzungsmechanismus gibt.<sup>37,38</sup> Das Korsmeyer-Peppas-Modell findet hauptsächlich Anwendung bei Freisetzungsuntersuchungen aus Polymer-Systemen, bei denen der Freisetzungsmechanismus nicht bekannt ist oder die Freisetzung durch verschiedene Prozesse beeinflusst wird. Das Freisetzungsverhalten lässt sich mit Hilfe des Freisetzungsexponenten  $n$  in drei Klassen einordnen (Tabelle 1): Fick'sche Diffusion, anomale Freisetzung und Polymerquellung.

Tabelle 1: Freisetzungsmechanismen des Korsmeyer-Peppas-Modells in Abhängigkeit des Freisetzungsexponenten  $n$  und der geometrischen Struktur des polymerischen Systems<sup>39</sup>

| Freisetzungsmechanismus    | Freisetzungsexponent $n$ |                      |                    |
|----------------------------|--------------------------|----------------------|--------------------|
|                            | Dünne Filme              | Zylindrische Systeme | Sphärische Systeme |
| <b>Fick'sche Diffusion</b> | 0,5                      | 0,45                 | 0,43               |
| <b>Anomale Freisetzung</b> | $0,5 < n < 1,0$          | $0,45 < n < 0,89$    | $0,43 < n < 0,85$  |
| <b>Polymerquellung</b>     | 1,0                      | 0,89                 | 0,85               |

Handelt es sich um eine Fick'sche Diffusion, so ist die Freisetzung des Wirkstoffes hauptsächlich diffusionsgesteuert und kaum abhängig von der Quellung und Relaxation der Polymerketten. Bei der Polymerquellung hingegen findet die Wirkstofffreisetzung hauptsächlich durch die Quellung und Relaxation der Polymerketten statt. Die Freisetzungsrates entspricht der Kinetik nullter Ordnung. Bei der anomalen Freisetzung haben sowohl die Diffusion als auch die Quellung und Relaxation der Polymerketten einen Einfluss auf die Freisetzung, wobei die Diffusionsrate und die Quellungsrate vergleichbar sind. Durch den simultanen Ablauf der beiden Prozesse entstehen zeitabhängige anomale Effekte.<sup>37,39</sup>

### 2.3.2. Peppas-Sahlin-Modell

Das Peppas-Sahlin-Modell ist eine Modifizierung des Korsmeyer-Peppas-Modells und bezieht sich nur auf die anomale Freisetzung des Wirkstoffes. Das Modell soll ermöglichen den genauen Einfluss des Diffusionsprozesses als auch des Quellungs- und Relaxationsprozesses auf die Wirkstofffreisetzung zu bestimmen. Die mathematische Formel lautet:<sup>37,40</sup>

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m} \quad (\text{Gl. 3})$$

Dabei handelt es sich bei  $K_1$  um die Geschwindigkeitskonstante der diffusionsgesteuerten Wirkstofffreisetzung und bei  $K_2$  um die Geschwindigkeitskonstante der durch Quellung und Relaxation der Polymerketten auftretenden Wirkstofffreisetzung. Der Freisetzungsexponent  $m$  ist verwandt mit dem Freisetzungsexponenten  $n$  aus dem Korsmeyer-Peppas-Modell und abhängig von Durchmesser und Dicke des Polymer-Systems.<sup>37,40</sup>

### 2.3.3 Weibull-Modell

Bei dem Weibull-Modell handelt es sich um eine empirische Verteilungsfunktion von Weibull, welche für die Beschreibung von Freisetzungskurven von Langenbucher angepasst wurde. Sie ist nur beschreibend und gibt daher keinerlei Auskunft über die Kinetik der Wirkstofffreisetzung. Das Modell lässt sich mit Gl. 4 beschreiben:<sup>37,40</sup>

$$m = 1 - e^{\frac{-(t-T)^b}{a}} \quad (\text{Gl. 4})$$

Hierbei sei  $m$  der freigesetzte Stoffmengenanteil der Substanz zum Zeitpunkt  $t$ ,  $t$  die Zeit,  $T$  die Verzögerungszeit des Freisetzungsprozesses (meistens null),  $a$  der Zeitfaktor und  $b$  der Freisetzungsexponent.<sup>37,40</sup>

Der Freisetzungsexponent  $b$  kann mit dem Freisetzungsexponenten  $n$  des Korsmeyer-Peppas-Modells verglichen werden und beschreibt den Kurvenverlauf des Freisetzungsprofils. Für  $b = 1$  nimmt die Kurve einen exponentiellen Verlauf an, während sie für  $b > 1$  sigmoidal und für  $b < 1$  parabolisch mit einer hohen Steigung zu Beginn und einem gleichmäßigen exponentiellen Verlauf im Späteren ist.<sup>37,40</sup>

Die absolute freigesetzte Stoffmenge kann mit Hilfe des Weibull-Modells durch folgende Gleichung beschrieben werden:

$$y = M * (1 - e^{\frac{-(t-T)^b}{a}}) \quad (\text{Gl. 5})$$

Wobei  $y$  die freigesetzte Stoffmenge der Substanz zum Zeitpunkt  $t$  und  $M$  die maximal freisetzbare Stoffmenge der Substanz darstellen.

### 2.3.4 Two-Site-Bind-Modell

Ein weiteres rein beschreibendes Modell für die Wirkstofffreisetzung aus Verkapselungssystemen ist das sogenannte Two-Site-Bind-Modell. Es dient normalerweise der Beschreibung der unterschiedlichen Affinitäten eines Liganden an der einen oder der anderen Seite eines Rezeptors oder Proteins zu binden. Nichts desto trotz lässt sich dessen mathematischer Kurvenverlauf auf die Freisetzungsprofile von ATP und Suramin aus Alginat- bzw.  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln übertragen, weshalb dessen Gleichung in folgendem Kapitel kurz erläutert wird:<sup>41,42</sup>

$$y = \frac{B_{\max 1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{\max 2} * t}{k_2 + t} \quad (\text{Gl. 6})$$

Dabei sind  $B_{\max 1}$  und  $B_{\max 2}$  die Bindungskapazitäten der ersten bzw. zweiten Seite,  $k_1$  und  $k_2$  die jeweiligen Bindungskonstanten,  $t$  die Konzentration des Liganden an der jeweiligen Seite und  $y$  die gesamte Konzentration des Liganden am Rezeptor oder Protein.<sup>41,42</sup>

Da die Gleichung aus zwei Termen besteht, kann ein Vergleich mit dem Peppas-Sahlin-Modell erbracht werden, bei der der erste Term die Wirkstofffreisetzung durch die Fick'sche Diffusion und der zweite Term die Wirkstofffreisetzung durch die Quellung und Relaxation der Polymerketten beschreibt. Wird diese Annahme ebenfalls auf das Two-Site-Bind-Modell angewendet, so kann dieses zur Beschreibung des Freisetzungsprofils eines Wirkstoffes verwendet werden. Dabei ist  $t$  die Zeit,  $y$  die freigesetzte Stoffmenge zum Zeitpunkt  $t$ ,  $B_{\max 1}$  die durch Diffusion maximal freisetzbare Stoffmenge und  $B_{\max 2}$  die durch Quellung und Relaxation der Polymerketten maximal freisetzbare Stoffmenge. Daraus ergibt sich für die gesamte maximal freisetzbare Stoffmenge  $y^* = B_{\max 1} + B_{\max 2}$ .



## 3 Experimenteller Teil

### 3.1 Geräte und Chemikalien

#### 3.1.1 Geräte

Alle Geräte und Materialien, die für diese Arbeit verwendet wurden, sind in Tabelle 2 festgehalten.

Tabelle 2: Verwendete Geräte

| Gerät                                                                        | Hersteller      | Modell                                | Software                     |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|------------------------------|
| Analysenwaage                                                                | Sartorius       | Practum224-1S                         | -----                        |
| Digitalmikroskop                                                             | Keyence         | VHX-7000                              | Integriert                   |
| Kolbenhubpipette 0,5 – 5 mL                                                  | Eppendorf       | Eppendorf<br>Research Plus            | -----                        |
| Kolbenhubpipette 1 – 10 mL                                                   | Eppendorf       | Eppendorf<br>Reference 2              | -----                        |
| Kolbenhubpipette 100 – 1000 µL                                               | Eppendorf       | Eppendorf<br>Reference                | -----                        |
| Laserbeuge-Partikelanalysegerät (SLS) mit automatischem Nassdispersiersystem | Microtrac       | Bluewave                              | Microtrac FLEX<br>V.11.0.0.4 |
| Vernebelungsapparatur                                                        |                 | Eigenanfertigung                      |                              |
| Messgerät für Oberflächenladung                                              | Particle-metrix | Stabino Particle<br>Charge<br>Mapping | Stabino Control<br>V.2.03.03 |
| UV-Vis-Photometer                                                            | Hach            | DR6000                                | -----                        |

### 3.1.2 Chemikalien

Alle Chemikalien, die während dieser Arbeit verwendet wurden, sind in Tabelle 3 festgehalten.

Tabelle 3: Verwendete Chemikalien

| Chemikalien                           | Hersteller                            | Reinheit<br>/ % | CAS-Nummer |
|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------|
| Adenosin-5'-triphosphat-Dinatriumsalz | Carl Roth GmbH & Co. KG               | ≥ 98            | 987-65-5   |
| Alginsäure Natriumsalz                | Carl Roth GmbH & Co. KG               | -----           | 9005-38-3  |
| Calciumchloriddihydrat                | VWR Chemicals                         | 100             | 10035-04-8 |
| Chitosan                              | Heppe Medical Chitosan GmbH           | 82,6 – 87,5     | 9012-76-4  |
| Eisessig                              | VWR Chemicals                         | 100             | 64-19-7    |
| Kaliumchlorid                         | Merck KGaA                            | -----           | 7447-40-7  |
| Magnesium-Lignosulfonat               | Chemische Werke Zell-Wildshausen GmbH | -----           | 8061-54-9  |
| Suramin                               | Merck KGaA                            | 99,6            | 129-46-4   |
| κ-Carrageen                           | Acros Organics                        | -----           | 11114-20-8 |

## 3.2 Durchführung

### 3.2.1 Herstellung der ATP- und Suramin-Kalibrierlösungen

Für die photometrische Bestimmung der zeitabhängigen Wirkstofffreisetzung müssen sowohl für ATP als auch für Suramin Kalibrierlösungen hergestellt werden. Hierfür werden zunächst die jeweiligen Stammlösungen hergestellt, indem 0,0553 g ATP in 100 mL destilliertem Wasser ( $1,09 \text{ mmol L}^{-1}$ ) und 0,0179 g Suramin in 250 mL destilliertem Wasser ( $55,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) gelöst werden. Mit Hilfe der Stammlösungen werden anschließend jeweils sechs Kalibrationsniveaus hergestellt (Tabelle 4). Die einzelnen Lösungen werden sodann in Dreifachbestimmung mittels einer 1,5 mL Quarzküvette an einem UV-Vis-Photometer der Firma Hach vermessen.

Tabelle 4: Kalibrationsniveaus von ATP und Suramin

| ATP-Kalibrationsniveaus |                                 |                             |                                    | Suramin-Kalibrationsniveaus |                                     |                             |                                        |
|-------------------------|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------|
| Niveau                  | V(ATP) <sub>Stamm</sub><br>/ mL | V(H <sub>2</sub> O)<br>/ mL | c(ATP)<br>/ $\mu\text{mol L}^{-1}$ | Niveau                      | V(Suramin) <sub>Stamm</sub><br>/ mL | V(H <sub>2</sub> O)<br>/ mL | c(Suramin)<br>/ $\mu\text{mol L}^{-1}$ |
| 1                       | 0,01                            | 9,99                        | 1,09                               | 1                           | 0,10                                | 9,90                        | 0,552                                  |
| 2                       | 0,05                            | 9,95                        | 5,45                               | 2                           | 0,20                                | 9,80                        | 1,10                                   |
| 3                       | 0,10                            | 9,90                        | 10,9                               | 3                           | 0,50                                | 9,50                        | 2,76                                   |
| 4                       | 0,50                            | 9,50                        | 54,5                               | 4                           | 1,00                                | 9,00                        | 5,52                                   |
| 5                       | 0,75                            | 9,25                        | 81,8                               | 5                           | 2,00                                | 8,00                        | 11,0                                   |
| 6                       | 1,00                            | 9,00                        | 109                                | 6                           | 5,00                                | 5,00                        | 27,6                                   |

### 3.2.2 Kapselherstellung

Für die Kapselherstellung werden eine 1 w%-ige Natriumalginat-Lösung sowie eine 1 w%-ige  $\kappa$ -Carrageen-Lösung vorbereitet, deren genaue Einwaagen in Tabelle 5 festgehalten sind.

Tabelle 5: Einwaagen von  $\kappa$ -Carrageen und Alginat für die Kapselherstellung

| $m(\kappa\text{-Carr})_{\text{ATP}}$<br>/ g | $m(\kappa\text{-Carr})_{\text{Su}}$<br>/ g | $m(\text{Alg})_{\text{ATP}}$<br>/ g | $m(\text{Alg})_{\text{Su}}$<br>/ g |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 0,5011                                      | 0,5079                                     | 0,5008                              | 0,5017                             |

Dazu werden das Natriumalginat bzw. das  $\kappa$ -Carrageen in je 50 mL destilliertem Wasser unter Rühren bei ca. 50 °C gelöst. Anschließend werden die Lösungen mit einem definierten Volumen an ATP-Stammlösung bzw. an Suramin-Stammlösung versetzt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Herstellung der wirkstoffversetzten Kapsellösungen

| Stammlösung | Alginat-Lösung |                      |                                              | $\kappa$ -Carrageen-Lösung |                      |                                               |
|-------------|----------------|----------------------|----------------------------------------------|----------------------------|----------------------|-----------------------------------------------|
|             | V(Alg)<br>/ mL | V(Wirkstoff)<br>/ mL | c(Wirkstoff-Alg)<br>/ $\mu\text{mol L}^{-1}$ | V(Carr)<br>/ mL            | V(Wirkstoff)<br>/ mL | c(Wirkstoff-Carr)<br>/ $\mu\text{mol L}^{-1}$ |
| ATP         | 45,0           | 5,00                 | 109                                          | 45,0                       | 5,00                 | 109                                           |
| Suramin     | 25,0           | 25,0                 | 27,6                                         | 50,0                       | 50,0                 | 27,6                                          |

Als Aushärtelösung werden für die Alginat-Kapseln eine 1 M Calciumchlorid-Lösung und für die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln eine 3 M Kaliumchlorid-Lösung verwendet. Für deren Herstellung werden 36,8 g Calciumchloriddihydrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) in 250 mL destilliertem Wasser ( $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ ) und 111 g Kaliumchlorid (KCl) in 500 mL destilliertem Wasser ( $2,98 \text{ mol L}^{-1}$ ) gelöst. Die Aushärtelösungen werden anschließend mit einem definierten Volumen an ATP- bzw. Suramin-Stammlösung versetzt (Tabelle 7).

Tabelle 7: Herstellung der mit wirkstoffversetzten Aushärtelösungen

| Stammlösung | $\text{CaCl}_2$ -Lösung      |                      |                                                            | KCl-Lösung     |                      |                                              |
|-------------|------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------|----------------|----------------------|----------------------------------------------|
|             | V( $\text{CaCl}_2$ )<br>/ mL | V(Wirkstoff)<br>/ mL | c(Wirkstoff- $\text{CaCl}_2$ )<br>/ $\mu\text{mol L}^{-1}$ | V(KCl)<br>/ mL | V(Wirkstoff)<br>/ mL | c(Wirkstoff-KCl)<br>/ $\mu\text{mol L}^{-1}$ |
| ATP         | 90,0                         | 10,0                 | 109                                                        | 90,0           | 10,0                 | 109                                          |
| Suramin     | 50,0                         | 50,0                 | 27,6                                                       | 50,0           | 50,0                 | 27,6                                         |

Um mit Hilfe der Aushärtelösungen aus den Kapsellösungen die eigentlichen Kapseln herstellen zu können, wird eine Vernebelungsapparatur benötigt. Diese ist eine Selbstanfertigung, die aus vier Hauptelementen besteht: Einer Spritzenpumpe der Firma B. Braun, die die zu vernebelnde Lösung durch die Anlage befördert, einer Pumpensteuerung, einem Sprühkopf und einem daran angeschlossenen Rotameter mit dessen Hilfe, der für die Vernebelung der Lösung benötigte Luftstrom eingestellt werden kann (Abbildung 12).



Abbildung 12: Aufbau der Vernebelungsapparatur

100 mL der jeweiligen Aushärtelösung werden in ein 200 mL Becherglas überführt und unter der Vernebelungsapparatur positioniert. Dabei wird die Lösung mit Hilfe eines Magnetrührers der Firma IKA ständig gerührt. 40 mL der jeweiligen Kapsellösung werden mit einer 50 mL Einwegspritze aufgezogen, die sodann in die Spritzenpumpe der Vernebelungsapparatur eingespannt wird (Abbildung 12). Der Luftstrom wird auf 4 slpm, die Spritzenpumpe auf 350 rpm gestellt und die Anlage gestartet, wodurch die Kapsellösung in die Aushärtelösung versprüht wird und zu der gewünschten Kapselbildung führt. Anschließend werden die fertigen Kapseln in der Aushärtelösung für ca. 5 h im Kühlschrank gelagert.

Um einen groben Überblick über das Kapselaussehen und die Kapselgröße zu erhalten, werden diese mit Hilfe eines Digitalmikroskops (KeyenceVHX-7000), sowie einem Laserbeuge-Partikelanalysegeräts (SLS, Bluewave, Software Microtrac FLEX V.11.0.0.4) untersucht. Für die mikroskopische Untersuchung wurde jede Kapselart jeweils mit Hilfe eines Spatels auf einen Objektträger gebracht. Anschließend wurden mit der integrierten Software dreidimensionale Aufnahmen der einzelnen Kapseln erstellt. Mit der SLS wurde die Partikelgrößenverteilung der verschiedenen Kapseln bestimmt. Hierfür wurde eine

Spatelspitze Kapseln in die Probenkammer der SLS überführt, diese 1 min mit Ultraschall behandelt und anschließend vermessen. Dabei ist eine Leerwertmessung zu Beginn und ein Spülschritt nach jeder Messung durchzuführen.

### 3.2.3 Layer-by Layer-Beschichtung

Für die LbL-Beschichtung der Kapseln werden zunächst 25 mL einer 2 w%-igen Chitosan-Lösung sowie einer 2 w%-igen Lignosulfonat-Lösung hergestellt. Die genauen Einwaagen sind in Tabelle 8 festgehalten. Dabei wird das Chitosan in 2 %-iger Essigsäure und das Lignosulfonat in destilliertem Wasser unter Rühren gelöst.

Tabelle 8: Chitosan und Lignosulfonat Einwaagen für die LbL-Beschichtung

| LbL-Lösung    | $m(\kappa\text{-Carr})_{\text{ATP}}$<br>/ g | $m(\kappa\text{-Carr})_{\text{Su}}$<br>/ g | $m(\text{Alg})_{\text{ATP}}$<br>/ g | $m(\text{Alg})_{\text{Su}}$<br>/ g |
|---------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Chitosan      | 0,4981                                      | 0,5071                                     | 0,4974                              | 0,5002                             |
| Lignosulfonat | 0,4979                                      | 0,5010                                     | 0,5000                              | 0,4999                             |

Die Beschichtung der Kapseln erfolgt, indem 1 mL der Chitosan-Lösung auf die Kapseln getropft und mit einem Spatel verrührt wird. Die überschüssige Chitosan-Lösung wird mit einer Einwegspritze abgenommen. Anschließend wird der Vorgang mit der Lignosulfonat-Lösung wiederholt. Mit dieser Technik werden eine, fünf und zehn LbL-Schichten für die Alginat-ATP- sowie die  $\kappa$ -Carrageen-ATP-Kapseln und fünf LbL-Schichten für die Alginat-Suramin- sowie die  $\kappa$ -Carrageen-Suramin-Kapseln hergestellt. Dabei besteht eine LbL-Schicht aus einer Schicht Chitosan als auch einer Schicht Lignosulfonat.

Um zu überprüfen, ob die LbL-Beschichtung erfolgreich ist, werden nach jeder hinzugefügten Polyelektrolytschicht ein Teil der Kapseln in Dreifachbestimmung mit einem Messgerät zur Oberflächenladungsbestimmung der Firma Particle Metrix vermessen, um deren  $\zeta$ -Potential zu bestimmen. Für die Messungen wird der Messbecher „BecherA0144“ und ein 400  $\mu\text{m}$  Piston verwendet. Der Messbecher wird mit 10 mL destilliertem Wasser sowie einer Spatelspitze Kapseln gefüllt. Durch Starten der Messung wird über einen Zeitraum von 30 s alle 10 s das  $\zeta$ -Potential der Kapseln bestimmt. Anschließend wird der Messbecher mit einem Wasser-Aceton-Gemisch (70 v%:30 v%) und destilliertem Wasser gespült.

### 3.2.4 Release-Versuche

Für die Untersuchung der Wirkstofffreisetzung aus den Kapseln werden die Alginat- bzw.  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln mit dem jeweiligen Wirkstoff und der jeweiligen Anzahl an LbL-Schichten in Dreifachbestimmung analysiert. Die Kapseln werden in einen Filterbeutel eingewogen (genaue Einwaagen siehe Tabelle 9) und in ein mit 20 mL destilliertem Wasser gefüllten Schraubdeckelbecher getaucht. Es werden anschließend mit Hilfe einer Pipette 1 mL Lösung zu genau definierten Zeitpunkten nach Eintauchen der Kapseln (5 min, 15 min, 30 min, 60 min, 90 min, 2 h, 4 h, 7 h,) entnommen und in ein 1,5 mL Eppendorf-Tube überführt. Nach jeder Probenahme wird das Kunststoffbehältnis mit 1 mL destilliertem Wasser erneut auf 20 mL Gesamtvolumen aufgefüllt. Die weitere Probenahme erfolgt täglich über einen Zeitraum von zwei Wochen. Die UV-Absorption der entnommenen Proben wird an einem UV-Vis-Photometer der Firma Hach bestimmt. Hierfür werden 0,75 mL der jeweiligen Probe in eine 1,5 mL Quarz-Küvette überführt und diese anschließend in den Probenhalter des Photometers gestellt. Für ATP wird die UV-Absorption bei einer Wellenlänge von 260 nm und bei Suramin von 313 nm gemessen, da dies die Absorptionsmaxima der jeweiligen Substanzen sind. Dabei ist vor der ersten Probemessung eine Leerwertmessung mit 0,75 mL destilliertem Wasser für die jeweilige Wellenlänge durchzuführen.

Tabelle 9: Kapseleinwaagen der Release-Versuche

| Anzahl<br>LbL | m(Carr-Kapseln) <sub>ATP</sub><br>/ g |        |        | m(Carr-Kapseln) <sub>Su</sub><br>/ g |        |        | m(Alg-Kapseln) <sub>ATP</sub><br>/ g |        |        | m(Alg-Kapseln) <sub>Su</sub><br>/ g |        |        |
|---------------|---------------------------------------|--------|--------|--------------------------------------|--------|--------|--------------------------------------|--------|--------|-------------------------------------|--------|--------|
|               | 1                                     | 2      | 3      | 1                                    | 2      | 3      | 1                                    | 2      | 3      | 1                                   | 2      | 3      |
| 0             | 0,2997                                | 0,2607 | 0,4115 | 0,1805                               | 0,1643 | 0,2215 | 0,3686                               | 0,4156 | 0,2568 | 0,3025                              | 0,5202 | 0,4113 |
| 1             | 0,2652                                | 0,3978 | 0,3196 | -----                                | -----  | -----  | 0,4557                               | 0,3319 | 0,5159 | -----                               | -----  | -----  |
| 5             | 0,3773                                | 0,4353 | 0,3320 | 0,0867                               | 0,0996 | 0,1380 | 0,4109                               | 0,4142 | 0,4074 | 0,1296                              | 0,1855 | 0,1839 |
| 10            | 0,3487                                | 0,3227 | 0,3927 | -----                                | -----  | -----  | 0,3155                               | 0,3393 | 0,3631 | -----                               | -----  | -----  |

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Kalibrationsgeraden

In Abbildung 13 sind die Kalibrationsgeraden von ATP und Suramin abgebildet. Dabei zeigt der Korrelationskoeffizient  $R^2$  beider Geraden, dass diese für die Konzentrationsbestimmung der Release-Proben geeignet sind. Die gemessenen Absorptionswerte der einzelnen Kalibrationsniveaus sind in Anhang A zu finden.

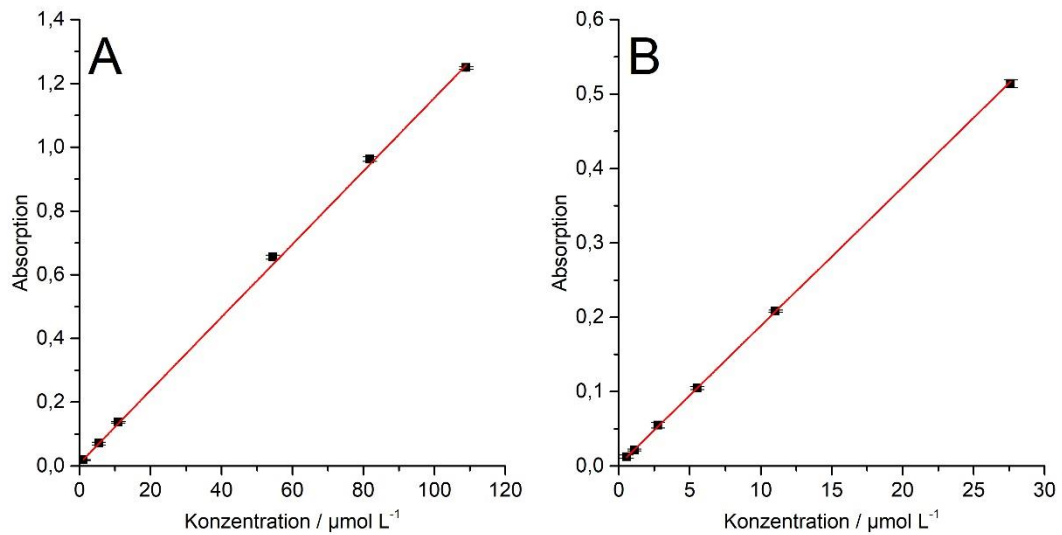


Abbildung 13: Kalibrationsgeraden der UV-Vis-Messungen von (A) ATP, 260 nm,  $y = (0,0115 \pm 9,19 \cdot 10^{-5}) \text{ L } \mu\text{mol}^{-1} \cdot x + (8,19 \pm 2,76) \cdot 10^{-3}$  ( $R^2 = 0,9997$ ) und (B) Suramin, 313 nm,  $y = (0,0187 \pm 7,37 \cdot 10^{-5}) \text{ L } \mu\text{mol}^{-1} \cdot x + (81,72 \cdot 10^{-3} \pm 5,30 \cdot 10^{-4})$  ( $R^2 = 0,9999$ )



## 4.2 Kapselherstellung

Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen der verschiedenen Kapseln sind in Abbildung 14 dargestellt. Während sowohl die Alginate- als auch die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln ohne LbL-Beschichtung transparent sind, haben die mit Chitosan und Lignosulfonat beschichteten Kapseln eine leicht bräunliche Färbung, was auf das Lignosulfonat zurückzuführen ist. Zudem ist ersichtlich, dass die Alginate-Kapseln eine eher runde Form aufweisen, während die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln in ihrer Form stark variieren. Ein optischer Unterschied zwischen den mit ATP versetzten und den mit Suramin versetzten Kapseln ist nicht erkennbar.

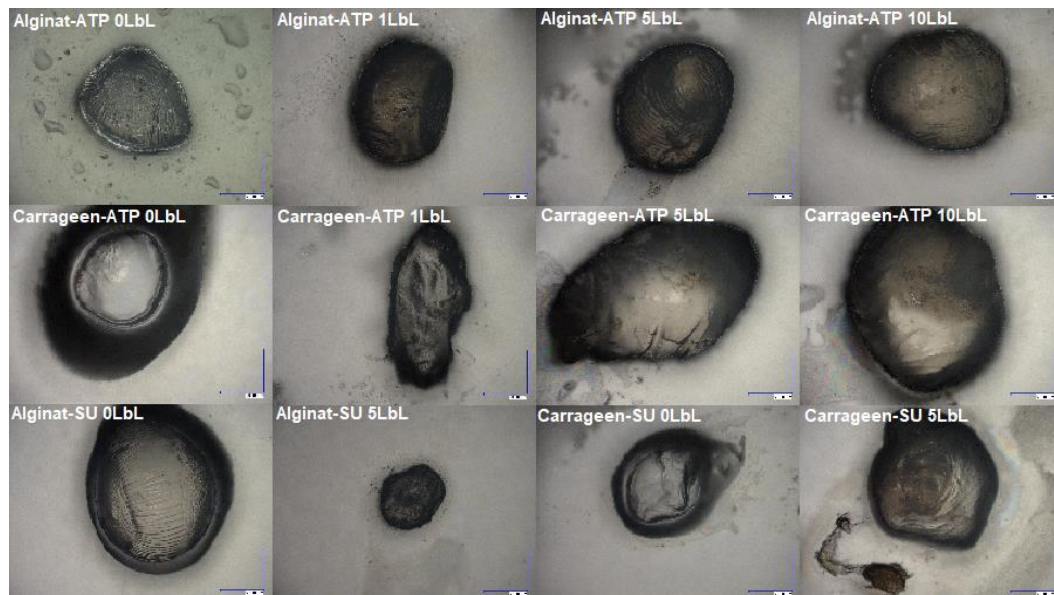


Abbildung 14: Mikroskopische Untersuchung Alginate- und  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln  
(Maßstabsbalken = 500,00  $\mu\text{m}$ )

Die Ergebnisse der gemessenen Partikelgrößen der verschiedenen Kapseln sind in Tabelle 10 gelistet. Die Partikelgrößen der Alginate-Kapseln als auch der  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln variieren stark je nach Anzahl der LbL-Beschichtung. Während der Durchmesser der Kapseln in der Regel ca. 1 mm beträgt, haben die Kapseln mit 10 LbL-Schichten lediglich einen Durchmesser von ca. 500  $\mu\text{m}$ . Grund dafür sind die nicht an der Kapseloberfläche gebundenen Chitosan- und Lignosulfonat-Moleküle, welche miteinander eine Bindung eingehen (Abbildung 14, Carrageen-SU 5LbL unten links). Je mehr Schichten hinzugefügt werden, desto mehr Chitosan-Lignosulfonat-Verbindung entstehen, welche sehr schlecht von den Kapseln getrennt werden können. Dementsprechend werden bei der Par-

tikelgrößenmessung auch diese Verbindungen mitgemessen. Ein Indiz, dass dies die Ursache für die starke Abweichung des Durchmessers bei den zehn LbL-Schichten ist, sind die extrem hohen Standardabweichungen dieser Messungen im Vergleich zu ihrem Mittelwert.

Tabelle 10: Partikelgrößenverteilung der Alginat- und  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln

| Anzahl der Schichten | Partikelgrößenverteilung Alginat-Kapseln / $\mu\text{m}$ |                | Partikelgrößenverteilung $\kappa$ -Carrageen-Kapseln / $\mu\text{m}$ |                |
|----------------------|----------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------|----------------|
|                      | ATP                                                      | Suramin        | ATP                                                                  | Suramin        |
| 0                    | 1515 $\pm$ 282                                           | 1056 $\pm$ 550 | 277 $\pm$ 49                                                         | 692 $\pm$ 140  |
| 1                    | 1513 $\pm$ 255                                           | -----          | 1159 $\pm$ 704                                                       | -----          |
| 5                    | 1408 $\pm$ 544                                           | 592 $\pm$ 164  | 1468 $\pm$ 660                                                       | 1142 $\pm$ 726 |
| 10                   | 489 $\pm$ 429                                            | -----          | 523 $\pm$ 367                                                        | -----          |

### 4.3 Layer-by-Layer-Beschichtung

Die Mittelwerte der  $\zeta$ -Potential-Bestimmung der Alginat- bzw.  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln sind in Tabelle 11 gelistet. Die einzelnen Messwerte sind im Anhang B zu finden.

Tabelle 11:  $\zeta$ -Potential-Messungen der Alginat- bzw.  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln

| Anzahl der Schichten | $\zeta$ -Potential Chitosan / mV |                             | $\zeta$ -Potential Lignosulfonat / mV |                             |
|----------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
|                      | Alginat-Kapseln                  | $\kappa$ -Carrageen-Kapseln | Alginat-Kapseln                       | $\kappa$ -Carrageen-Kapseln |
| 0                    | -9,97 $\pm$ 2,02                 | -33,7 $\pm$ 4,06            | -9,97 $\pm$ 2,02                      | -33,7 $\pm$ 4,06            |
| 1                    | 1,30 $\pm$ 0,36                  | 15,1 $\pm$ 2,48             | -18,8 $\pm$ 2,08                      | -45,8 $\pm$ 9,11            |
| 2                    | 17,3 $\pm$ 0,50                  | 17,3 $\pm$ 1,15             | -10,4 $\pm$ 4,31                      | -36,9 $\pm$ 6,96            |
| 3                    | 14,1 $\pm$ 1,50                  | 20,8 $\pm$ 2,33             | -11,4 $\pm$ 4,75                      | -25,5 $\pm$ 4,69            |
| 4                    | 14,3 $\pm$ 0,30                  | 32,4 $\pm$ 5,42             | -10,4 $\pm$ 2,74                      | -41,0 $\pm$ 6,64            |
| 5                    | 15,6 $\pm$ 2,28                  | 20,3 $\pm$ 3,55             | -21,2 $\pm$ 3,38                      | -36,5 $\pm$ 8,50            |
| 6                    | 12,2 $\pm$ 1,46                  | 21,6 $\pm$ 2,89             | -25,7 $\pm$ 1,20                      | -35,9 $\pm$ 5,08            |
| 7                    | 8,47 $\pm$ 1,62                  | 25,2 $\pm$ 3,35             | -23,2 $\pm$ 3,17                      | -30,5 $\pm$ 12,1            |
| 8                    | 14,1 $\pm$ 4,03                  | 32,5 $\pm$ 5,24             | -23,9 $\pm$ 1,81                      | -35,7 $\pm$ 6,92            |
| 9                    | 15,3 $\pm$ 2,03                  | 30,6 $\pm$ 3,12             | -26,6 $\pm$ 1,86                      | -40,1 $\pm$ 1,87            |
| 10                   | 13,3 $\pm$ 1,36                  | 34,8 $\pm$ 1,80             | -26,9 $\pm$ 1,36                      | -24,5 $\pm$ 11,1            |

Da es sich bei Chitosan um ein kationisches und bei Lignosulfonat um ein anionisches Polyelektrolyt handelt, sollten die  $\zeta$ -Potentiale der Chitosan-Schichten positiv und die der Lignosulfonat-Schichten negativ ausfallen. In Abbildung 15 sind die  $\zeta$ -Potentiale der jeweiligen Schichten sowohl für die Alginate-Kapseln als auch für die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln grafisch aufgetragen. Anhand dieser Grafik ist zu erkennen, dass die LbL-Beschichtung erfolgreich durchgeführt wurde, da das  $\zeta$ -Potential nach jeder Chitosan-Schicht positive und nach jeder Lignosulfonat-Schicht negative Werte aufweist.

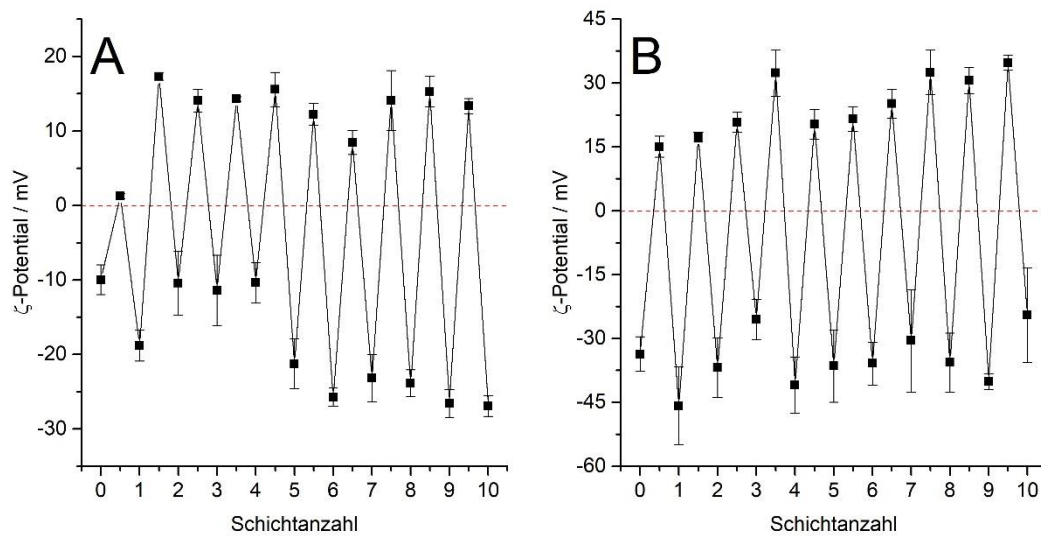


Abbildung 15:  $\zeta$ -Potential der LbL-Schichten der Alginate-Kapseln (A) sowie der  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln (B), beginnend mit den reinen Kapseln. Dabei stellt jede Schichtanzahl eine vollständige LbL-Schicht dar (erster Datenpunkt Chitosan-Schicht, zweiter Datenpunkt Lignosulfonat-Schicht).

#### 4.4 Release-Versuche

Für die Release-Versuche wird die massenspezifische freigesetzte Stoffmenge von ATP bzw. Suramin aus den jeweiligen Kapseln wie folgt berechnet:

1. Mit Hilfe der Kalibrationsgeraden wird die ATP- bzw. Suramin-Konzentration jeder entnommenen Probe bestimmt:

$$c = \frac{A - b}{m} \quad (\text{Gl. 7})$$

Mit:

$c$  = Konzentration ATP/ Suramin der Probe /  $\mu\text{mol L}^{-1}$

$A$  = Absorption der Probe

$b$  = Achsenabschnitt

$m$  = Steigung /  $\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$

2. Die freigesetzte Stoffmenge zum Zeitpunkt der Probenahme im gesamten Release-Ansatz sowie in der entnommenen Probe lässt sich mit dem Gesamtvolumen bzw. dem Probevolumen ermitteln:

$$n_i = c_i * V_i \quad (\text{Gl. 8})$$

Mit:

$n_i$  = freigesetzte Stoffmenge des Release-Ansatzes bzw. der Probe

$c_i$  = Konzentration ATP/Suramin der Probe /  $\mu\text{mol L}^{-1}$

$V_i$  = Gesamtvolumen bzw. Probevolumen

3. Die Stoffmenge des Release-Ansatzes nach der ersten Probenahme entspricht der Differenz zwischen Stoffmenge des Ansatzes zum Zeitpunkt der Probenahme und der Stoffmenge der entnommenen Probe:

$$n_{0,neu} = n_{0,alt} - n_{0,Probe} \quad (\text{Gl. 9})$$

Mit:

$n_{0,neu}$  = Stoffmenge nach der ersten Probenahme /  $\mu\text{mol}$

$n_{0,alt}$  = Stoffmenge zum Zeitpunkt der ersten Probenahme /  $\mu\text{mol}$

$n_{0,Probe}$  = Stoffmenge der entnommenen Probe /  $\mu\text{mol}$

4. Für den nächsten Probenahme-Zeitpunkt wird die Stoffmenge des Release-Ansatzes wie oben beschrieben berechnet und von dieser wird die zuvor berechnete neue Stoffmenge des Release-Ansatzes abgezogen. Hiermit lässt sich die neu freigesetzte Stoffmenge des Release-Ansatzes zwischen den Probenahmen ermitteln:

$$n_{1,neu\ frei} = n_{1,alt} - n_{0,neu} \quad (\text{Gl. 10})$$

Mit:

$n_{1,neu\ frei}$  = neu freigesetzte Stoffmenge zwischen den Probenahme-Zeitpunkten /  $\mu\text{mol}$

$n_{1,alt}$  = Stoffmenge des Release-Ansatzes zum Zeitpunkt der zweiten Probenahme /  $\mu\text{mol}$

$n_{0,neu}$  = Stoffmenge des Release-Ansatzes nach der ersten Probenahme /  $\mu\text{mol}$

5. Die neu freigesetzte Stoffmenge wird für jede Probenahme berechnet und zu der bei der ersten Probenahme ermittelten Stoffmenge addiert, um die kumulative Stoffmenge zu erhalten:

$$n_{i,kum} = n_{0,alt} + \sum_{i=1}^n n_{i,neu\ frei} \quad (\text{Gl. 11})$$

Mit:

$n_{i,kum}$  = kumulative Stoffmenge /  $\mu\text{mol}$

$n_{0,alt}$  = Stoffmenge zum Zeitpunkt der ersten Probenahme /  $\mu\text{mol}$

$n_{i,neu\ frei}$  = neu freigesetzte Stoffmenge bei jeder nachfolgender Probenahme /  $\mu\text{mol}$

6. Um die drei angesetzten Release-Versuche der jeweiligen Kapseln vergleichen zu können wird abschließend die massenspezifische Stoffmenge mit Hilfe der Kapseleinwaage berechnet:

$$n_{i,mspez} = \frac{n_{i,kum}}{m_{Kapseln}} \quad (\text{Gl. 12})$$

Mit:

$$n_{i,mspez} = \text{massenspezifische Stoffmenge} / \mu\text{mol g}^{-1}$$

$$n_{i,kum} = \text{kumulative Stoffmenge} / \mu\text{mol}$$

$$m_{Kapseln} = \text{Kapseleinwaage} / \text{g}$$

Die einzelnen Schritte für die Berechnung der massenspezifischen freigesetzten Stoffmenge von ATP bzw. Suramin aus den Kapseln lassen sich in folgender Formel zusammenfassen:

$$n_{i,mspez} = \frac{c_0 * V_{ges} + \sum_{i=0}^n (c_{i+1} * V_{ges} - (c_i * V_{ges} - c_i * V_{Probe}))}{m_{Kapseln}} \quad (\text{Gl. 13})$$

Mit:

$$n_{i,mspez} = \text{massenspezifische Stoffmenge} / \mu\text{mol g}^{-1}$$

$$c_0 = \text{Konzentration ATP bzw. Suramin der ersten Probe} / \mu\text{mol L}^{-1}$$

$$V_{ges} = \text{Gesamt volumen des Release-Ansatzes} / \text{L}$$

$$c_{i+1} = \text{Konzentration ATP bzw. Suramin der (i+1)ten Probe} / \mu\text{mol L}^{-1}$$

$$c_i = \text{Konzentration ATP bzw. Suramin der i-ten Probe} / \mu\text{mol L}^{-1}$$

$$V_{Probe} = \text{Volumen der entnommenen Probe} / \text{L}$$

Aufgrund der fehlenden Kenntnis über die tatsächliche Gesamtstoffmenge in den Kapseln sowie der Tatsache, dass Lignosulfonat sowohl bei 260 nm als auch bei 313 nm absorbiert, müssen die berechneten massenspezifischen Stoffmengen normiert werden, um einen Vergleich zwischen den Kapseln und ihren unterschiedlichen Beschichtungen zu ermöglichen. Für diese Normierung werden die massenspezifischen Stoffmengen zum jeweiligen Probenahme-Zeitpunkt durch ihre kumulative massenspezifische Stoffmenge dividiert:

$$f_n = \frac{n_{i,mspez}}{\sum_{i=0}^n n_{i,mspez}} \quad (\text{Gl. 14})$$

Mit:

$f_n$  = normierte Freisetzung

$n_{i,mspez}$  = massenspezifische Stoffmenge /  $\mu\text{mol g}^{-1}$

$\sum_{i=0}^n n_{i,mspez}$  = kumulative massenspezifische Stoffmenge /  $\mu\text{mol g}^{-1}$

Alle gemessenen Absorptionen der einzelnen Release-Versuche, sowie die dazugehörigen berechneten Werte sind im Anhang C zu finden.

#### 4.4.1 ATP-Release

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Release-Profile von ATP aus den Alginate- bzw.  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln mit unterschiedlicher LbL-Beschichtung präsentiert und diskutiert. Hierfür wurden für jeden Release-Versuch die normierte Freisetzung ( $f_n$ ), sowie die relative Freisetzung ( $f_{rel}$ ) mit Hilfe der Software OriginPro 2016 gegen die Zeit grafisch aufgetragen und deren Release-Profile mit den mathematischen Modellen Weibull, Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin sowie Two-Site-Bind beschrieben.

In Abbildung 16 sind die Release-Profile der  $f_n$  von ATP aus Alginate-Kapseln mit je null, einer, fünf und zehn Schichten Chitosan und Lignosulfonat dargestellt. Die Gleichungen sowie Korrelationskoeffizienten  $R^2$  der vier Release-Modelle sind in Tabelle 12 festgehalten. Die vollständigen Werte der Modelle sind im Anhang D gelistet.

Tabelle 12:  $R^2$  der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten ATP-Freisetzung aus Alg-Kapseln

| Modell                  | Gleichung                                                         | Korrelationskoeffizient $R^2$ |        |        |        |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|
|                         |                                                                   | 0 LbL                         | 1 LbL  | 5 LbL  | 10 LbL |
| <b>Weibull</b>          | $y = M * (1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}})$                            | 0,9437                        | 0,8276 | 0,6147 | 0,9186 |
| <b>Korsmeyer-Peppas</b> | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$                                  | 0,8631                        | 0,7763 | 0,7532 | 0,7533 |
| <b>Peppas-Sahlin</b>    | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m}$                 | 0,9476                        | 0,9355 | 0,9363 | 0,9025 |
| <b>Two-Site-Bind</b>    | $y = \frac{B_{max1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{max2} * t}{k_2 + t}$ | 0,9541                        | 0,9779 | 0,9805 | 0,9414 |

Werden die Korrelationskoeffizienten  $R^2$  der Release-Modelle untereinander verglichen, so lässt sich feststellen, dass das Peppas-Sahlin-Modell sowie das Two-Site-Bind-Modell die Release-Profile am besten beschreiben, während das Korsmeyer-Peppas-Modell am wenigsten geeignet ist. Wie in Kapitel 2.3.1 und 2.3.2 bereits erläutert, werden die beiden Freisetzungsmechanismen Diffusion und Quellung der Polymerketten bei dem Korsmeyer-Peppas-Modell über einen einzigen Term ausgedrückt, während sie im Peppas-Sahlin-Modell in zwei Termen getrennt voneinander beschrieben werden. Für die Freisetzung von ATP aus den Alginat-Kapseln lässt sich daher schließen, dass die beiden Freisetzungsmechanismen unterschiedlichen Einfluss auf diese ausüben.

Aus den Release-Profilen in Abbildung 16 wird durch alle Modelle ersichtlich, dass die Freisetzung von ATP aus den unbeschichteten als auch aus den beschichteten Alginat-Kapseln in den ersten sieben Stunden rapide erfolgt, d.h. es findet ein Burst-Release statt. Dieser Burst-Release scheint durch die Anzahl der Schichten kaum beeinflussbar zu sein, da  $f_n$  von ATP nach den ersten sieben Stunden für jede Beschichtung ca. 0,06 beträgt. Nach dem Burst-Release erfolgt die Freisetzung des ATPs langsamer, wobei hier ein Unterschied zwischen den unterschiedlichen Beschichtungen ersichtlich ist.

Für die bessere Betrachtung und Vergleichbarkeit der Release-Profile wird  $f_n$  in  $f_{rel}$  umgerechnet. Da die maximale Stoffmenge ATPs in den Kapseln nicht bekannt ist, wird diese anhand des Release-Profils der unbeschichteten Kapseln bestimmt. Im Rahmen der Unsicherheiten lässt sich erkennen, dass der Freisetzungswert von ca. 0,079 bei  $t = 24$  h über den restlichen Release-Zeitraum von zwei Wochen unverändert bleibt, d.h. es wird keine weitere Stoffmenge frei. Dieses Release-Verhalten passt zu den bereits veröffentlichten Ergebnissen von Feuser, 2018<sup>43</sup>. Auch hier wurden nach 24 h 100 % ATP freigesetzt. Unter der Annahme, dass durch die identische Vorgehensweise bei der Kapselherstellung die maximal verkapselte ATP-Stoffmenge für jeden Release-Versuch dieselbe ist, lassen sich die normierten Freisetzungswerte mit  $f_{max} = 0,079$  in relative Werte umrechnen. Dabei muss davon ausgegangen werden, dass der Verlust an ATP-Stoffmenge während der LbL-Beschichtung vernachlässigbar klein ist.



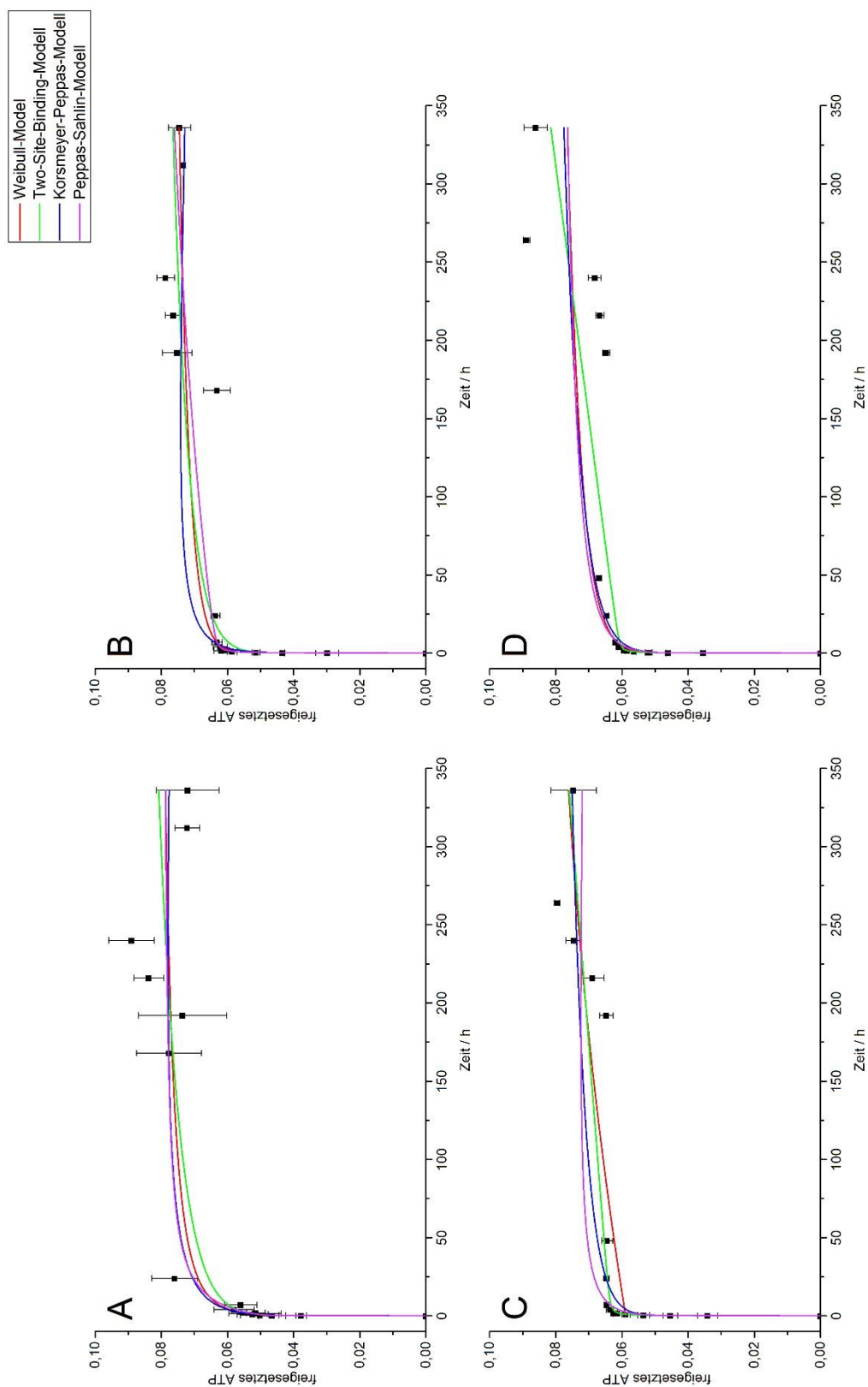


Abbildung 16: Release-Profile der normierten ATP-Freisetzung aus Alg-Kapseln mit (A) null, (B) eine, (C) fünf und (D) zehn LbL-Beschichtungen mit CS und LS

Die relativen Release-Profile sind in Abbildung 17 dargestellt. Auch hier wird durch die Korrelationskoeffizienten der vier Modelle (Tabelle 13) deutlich, dass das Peppas-Sahlin-Modell sowie das Two-Site-Bind-Modell das Release-Verhalten am besten beschreiben.

Tabelle 13:  $R^2$  der mathematischen Modelle für die Release-Profile der relativen ATP-Freisetzung aus Alg-Kapseln

| Modell                  | Gleichung                                                         | Korrelationskoeffizient $R^2$ |        |        |        |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|
|                         |                                                                   | 0 LbL                         | 1 LbL  | 5 LbL  | 10 LbL |
| <b>Weibull</b>          | $y = M * (1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}})$                            | 0,8917                        | 0,8761 | 0,8468 | 0,8003 |
| <b>Korsmeyer-Peppas</b> | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$                                  | 0,8631                        | 0,7763 | 0,7537 | 0,7533 |
| <b>Peppas-Sahlin</b>    | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m}$                 | 0,9476                        | 0,9355 | 0,9363 | 0,9025 |
| <b>Two-Site-Bind</b>    | $y = \frac{B_{max1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{max2} * t}{k_2 + t}$ | 0,9427                        | 0,9724 | 0,9805 | 0,9414 |

Mit den relativen Release-Profilen von ATP aus Alginat-Kapseln (Abbildung 17) lässt sich deutlicher erkennen, dass die nach dem Burst-Release freigesetzte Stoffmenge des ATPs mit der LbL-Beschichtung durch Chitosan und Lignosulfonat verzögert werden kann. Dabei kann die vollständige Stoffmengenfreisetzung im Rahmen der Unsicherheiten schon bei einer LbL-Schicht um sieben Tage, nämlich nach ca. 192 h verzögert werden. Bei fünf LbL-Schichten dauert es ca. 11 Tage (264 h) bis 100 % ATP aus den Kapseln freigesetzt wurde und bei zehn scheint der Release nach dem Versuchszeitraum von zwei Wochen noch nicht ganz abgeschlossen zu sein. Bestätigt wird diese Beobachtung durch die Werte des Freisetzungsexponenten  $m$  des Peppas-Sahlin-Modells. Während dieser für die unbeschichteten Kapseln  $0,16 \pm 0,03$  beträgt, verringert er sich mit einer LbL-Schicht auf  $0,15 \pm 0,03$ , mit fünf LbL-Schichten auf  $0,13 \pm 0,03$  und mit zehn LbL-Schichten auf  $0,11 \pm 0,05$ .

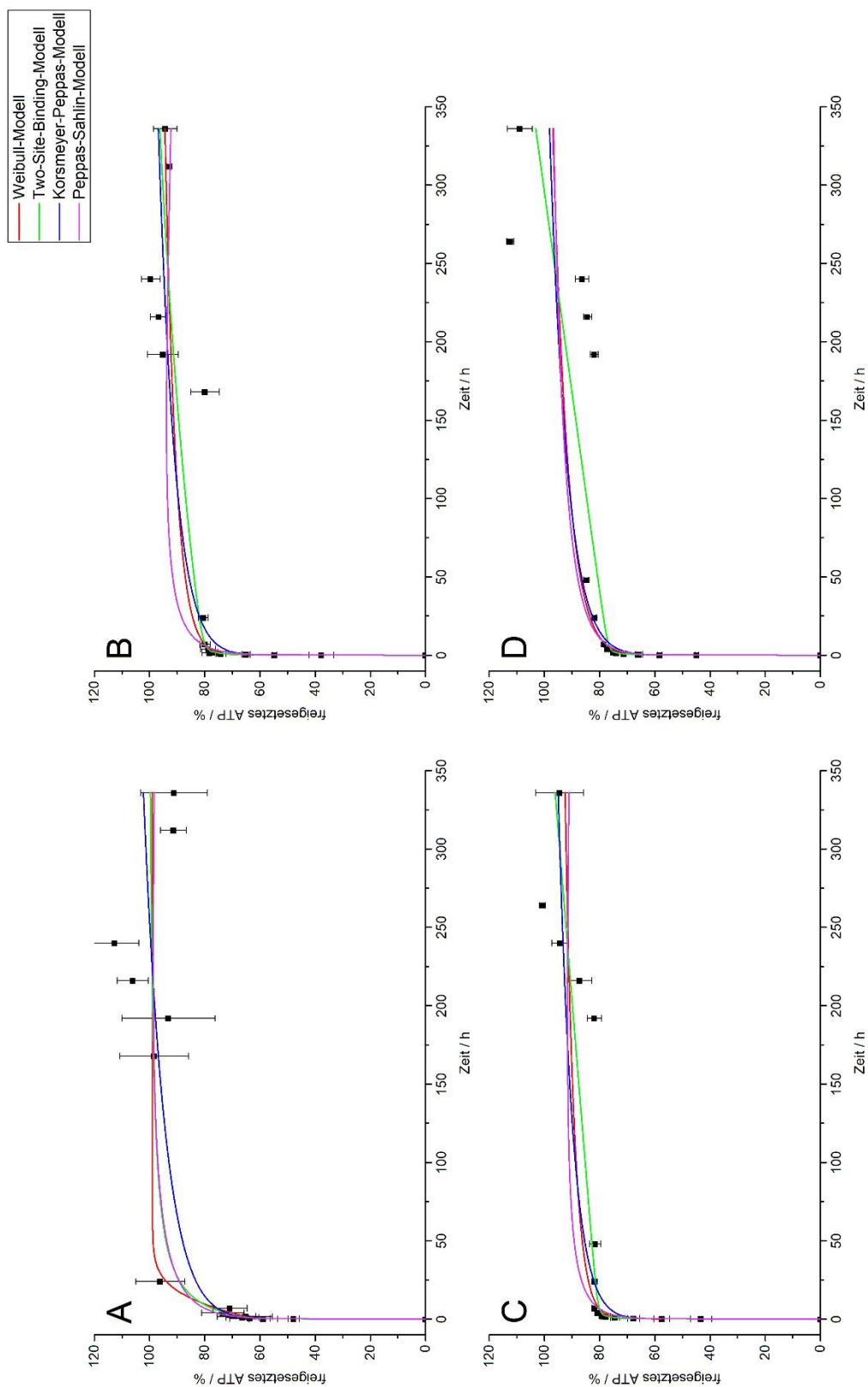


Abbildung 17: Release-Profile der relativen ATP-Freisetzung aus Alg-Kapseln mit (A) null, (B) eine, (C) fünf und (D) zehn LbL-Beschichtungen mit CS und LS

Die Release-Profile von  $f_n$  aus unbeschichteten sowie beschichteten  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln sind in Abbildung 18 dargestellt und die Korrelationskoeffizienten der vier mathematischen Modelle sind in Tabelle 14 gelistet.

Tabelle 14:  $R^2$  der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten ATP-Freisetzung aus  $\kappa$ -Carr-Kapseln

| Modell                  | Gleichung                                                         | Korrelationskoeffizient $R^2$ |        |        |        |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|
|                         |                                                                   | 0 LbL                         | 1 LbL  | 5 LbL  | 10 LbL |
| <b>Weibull</b>          | $y = M * (1 - e^{\frac{-(t-T)^b}{a}})$                            | 0,8703                        | 0,9668 | 0,9955 | 0,9892 |
| <b>Korsmeyer-Peppas</b> | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$                                  | 0,8272                        | 0,7530 | 0,6310 | 0,5530 |
| <b>Peppas-Sahlin</b>    | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m}$                 | 0,8994                        | 0,9562 | 0,9759 | 0,9405 |
| <b>Two-Site-Bind</b>    | $y = \frac{B_{max1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{max2} * t}{k_2 + t}$ | 0,9626                        | 0,9771 | 0,9957 | 0,9840 |

Wie bei den Alginat-Kapseln kann durch den Vergleich der Korrelationskoeffizienten untereinander festgestellt werden, dass die Modelle Peppas-Sahlin und Two-Site-Bind das Release-Verhalten am besten beschreiben, während das Korsmeyer-Peppas-Modell am wenigsten geeignet ist. Das bedeutet, dass die ATP-Freisetzung aus  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln auch unterschiedlich durch Diffusionsprozesse und die Quellung der Polymerketten beeinflusst wird.

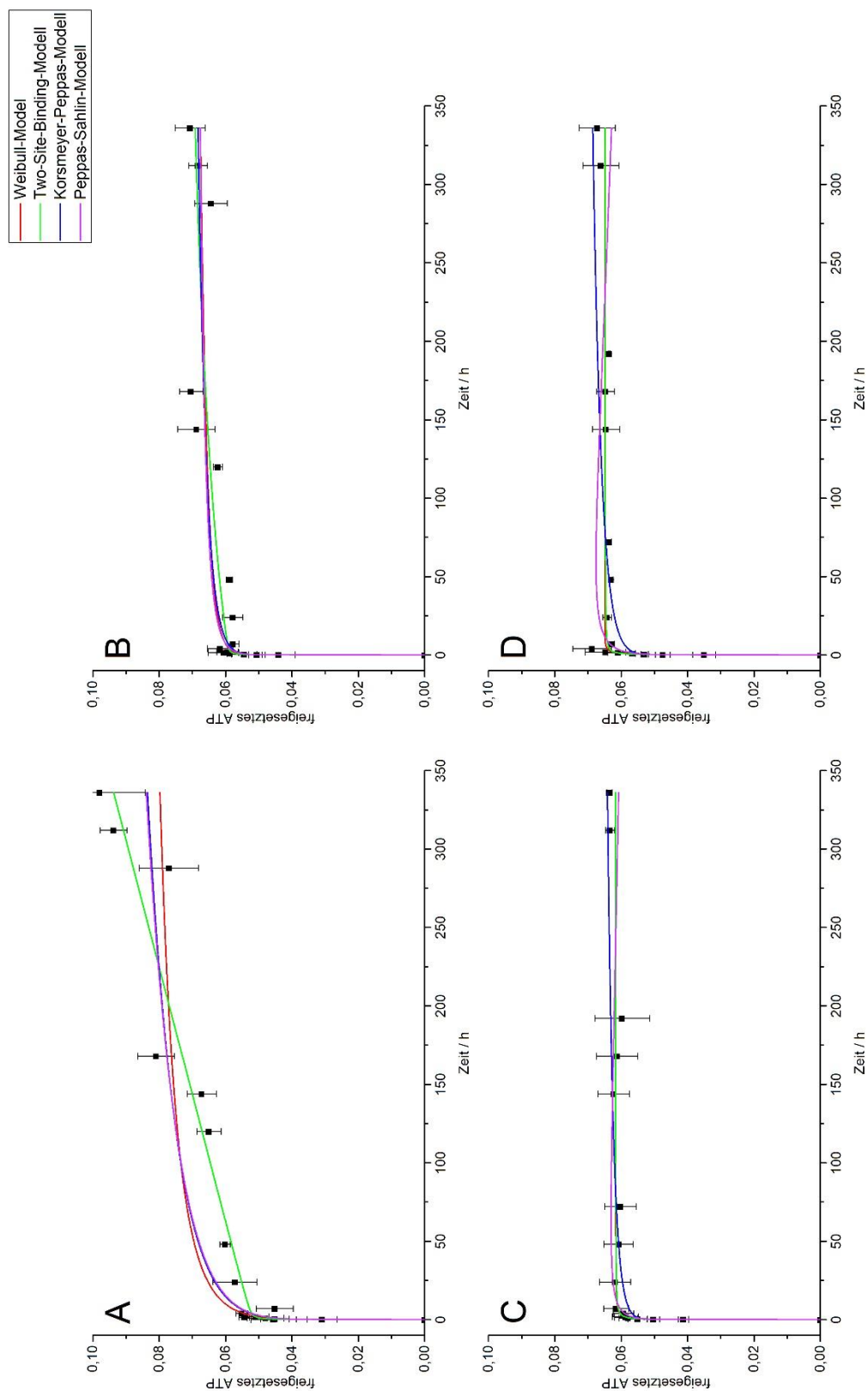


Abbildung 18: Release-Profile der normierten ATP-Freisetzung aus  $\kappa$ -Carr-Kapseln mit (A) null, (B) eine, (C) fünf und (D) zehn LbL-Beschichtungen mit CS und LS

Auch bei den Release-Profilen ATPs aus den  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln (Abbildung 18) ist zu erkennen, dass die Freisetzung von ATP aus den unbeschichteten als auch aus den beschichteten Kapseln in den ersten sieben Stunden als Burst-Release stattfindet, welcher durch die LbL-Schichtanzahl kaum beeinflusst wird. Auch hier beträgt die  $f_n$  nach sieben Stunden für jede Beschichtung ca. 0,06. Nach dem Burst-Release erfolgt die Freisetzung des ATPs deutlich langsamer. Zu erwähnen sei, dass lediglich bei den unbeschichteten und den, mit einer LbL-Schicht beschichteten, Kapseln ein weiterer Anstieg von  $f_n$  nach dem Burst-Release erkennbar ist.

Bei erster Überlegung führt dieses Phänomen zu der Schlussfolgerung, dass entgegen der Erwartungen der Release des ATPs mit dem Hinzufügen von LbL-Schichten nicht verzögert, sondern eher beschleunigt wird. Grund dafür könnte z.B. die Vorgehensweise bei der Beschichtung sein. Im Vergleich zu den Alginat-Kapseln sind die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln weicher und zu dem stark temperaturabhängig. Durch die mechanische Belastung der Kapseln während des Beschichtungsprozess ist es also möglich, dass diese an einigen Stellen beschädigt werden und somit schon während der Beschichtung einen Teil der Stoffmenge verlieren. Die verbleibende Stoffmenge wird deshalb schon durch den Burst-Release vollständig freigesetzt.

Gegen diese Theorie spricht jedoch der  $f_n$ -Wert des Burst-Release, der bei jeder Beschichtungsart 0,06 beträgt, obwohl theoretisch durch jede Beschichtung mehr mechanische Belastung und dementsprechend mehr Stoffmenge während der Beschichtung frei werden müsste. Demzufolge müsste auch der  $f_n$ -Wert des Burst-Release mit steigender LbL-Schichtanzahl abnehmen.

Mit Blick auf die ATP-Freisetzung aus den Alginat-Kapseln und die mittels LbL-Schichten erzielte Verzögerung ist eine andere Theorie wahrscheinlicher. Da bei den Alginat-Kapseln schon durch eine Schicht die maximale Stoffmengenfreesetzung um sieben Tage verzögert werden konnte, ist es wahrscheinlicher, dass der Release auch bei den  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln durch die LbL-Schichten verzögert wird, allerdings so stark, dass das Release-Profil über den Versuchszeitraum von zwei Wochen konstant aussieht. Die Tatsache, dass selbst bei den unbeschichteten  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln nach zwei Wochen noch keine 100 % ATP freigesetzt wurden, unterstützt diese Theorie zusätzlich.

Für die bessere Betrachtung und Vergleichbarkeit der Release-Profile wird auch hier  $f_n$  in  $f_{rel}$  umgerechnet. Dadurch, dass die maximale freisetzbare Stoffmenge aus den unbe-

schichteten Kapseln nach zwei Wochen noch nicht erreicht ist und aufgrund von Schimmelbefall der Kapseln der Versuchszeitraum nicht verlängert werden konnte, kann mit dem Release-Profil alleine kein Maximalwert bestimmt werden. Um dennoch  $f_{rel}$  zu berechnen, wird mit Hilfe des Weibull-Modells die maximal freisetzbare Stoffmenge ermittelt (Koeffizient M der Weibull-Gleichung). Mit  $M = 0,09 \pm 0,06$  und denselben Annahmen, die auch bei der Freisetzung des ATPs aus den Alginat-Kapseln getroffen wurden, lässt sich schließlich  $f_{rel}$  errechnen und die zugehörigen Release Profile erstellen (Abbildung 19). Die Korrelationskoeffizienten der mathematischen Modelle sind in Tabelle 15 festgehalten und zeigen auch hier die Eignung der beiden Modelle Peppas-Sahlin sowie Two-Site-Bind.

Tabelle 15:  $R^2$  der mathematischen Modelle für die Release-Profile der relativen ATP-Freisetzung aus  $\kappa$ -Carr-Kapseln

| Modell                  | Gleichung                                                         | Korrelationskoeffizient $R^2$ |        |        |                   |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|--------|-------------------|
|                         |                                                                   | 0 LbL                         | 1 LbL  | 5 LbL  | 10 LbL            |
| <b>Weibull</b>          | $y = M * (1 - e^{\frac{-(t-T)^b}{a}})$                            | 0,8963                        | 0,7056 | 0,9071 | $3,22 * 10^{-15}$ |
| <b>Korsmeyer-Peppas</b> | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$                                  | 0,8272                        | 0,7530 | 0,6310 | 0,5530            |
| <b>Peppas-Sahlin</b>    | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m}$                 | 0,8994                        | 0,9562 | 0,9921 | 0,9827            |
| <b>Two-Site-Bind</b>    | $y = \frac{B_{max1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{max2} * t}{k_2 + t}$ | 0,9628                        | 0,9771 | 0,9957 | 0,9840            |

Wie bereits erwähnt erfolgt im Vergleich zu den Alginat-Kapseln die Freisetzung des ATPs aus den  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln erheblich langsamer. Selbst bei den unbeschichteten Kapseln wurden nach zwei Wochen nur ca. 95 % des ATPs freigesetzt. Durch die relative Darstellung (Abbildung 19) ist der Verlauf der beschichteten Kapseln deutlicher zu erkennen. Bei einer LbL-Schicht ist nach dem Burst-Release eine minimale Steigung innerhalb des zweiwöchigen Release-Zeitraum zu beobachten. Der Vergleich der m-Werte des Peppas-Sahlin-Modells für die unbeschichteten ( $m = 0,08 \pm 2,42$ ) und die mit einer Layer beschichteten Kapseln ( $m = 0,07 \pm 0,04$ ) bestätigt die verzögerte Freisetzung mit einer LbL-Schicht. Bei den mit fünf und zehn Layern beschichteten Kapseln ist eine Steigung nach dem Burst-Release mit bloßem Auge kaum ersichtlich. Allerdings zeigt sich auch hier ein Trend des Freisetzungsexponenten m. Dieser beträgt bei fünf LbL-Schichten

---

$-0,07 \pm 0,01$  und bei zehn  $-0,09 \pm 0,01$ . Die Abnahme von  $m$  mit steigender LbL-Schichtanzahl spricht für die zuvor erwähnte Theorie der extrem verlangsamten ATP-Freisetzung. Um jedoch eine genaue Aussage über das Release-Verhalten zu treffen und die Verzögerungs-Theorie zu bestätigen oder zu widerlegen, sollten die Release-Versuche mit  $\kappa$ -Carrageen über einen längeren Zeitraum und unter sterilen Bedingungen wiederholt werden, da mit den Ergebnissen dieser Arbeit lediglich Vermutungen getroffen werden können.



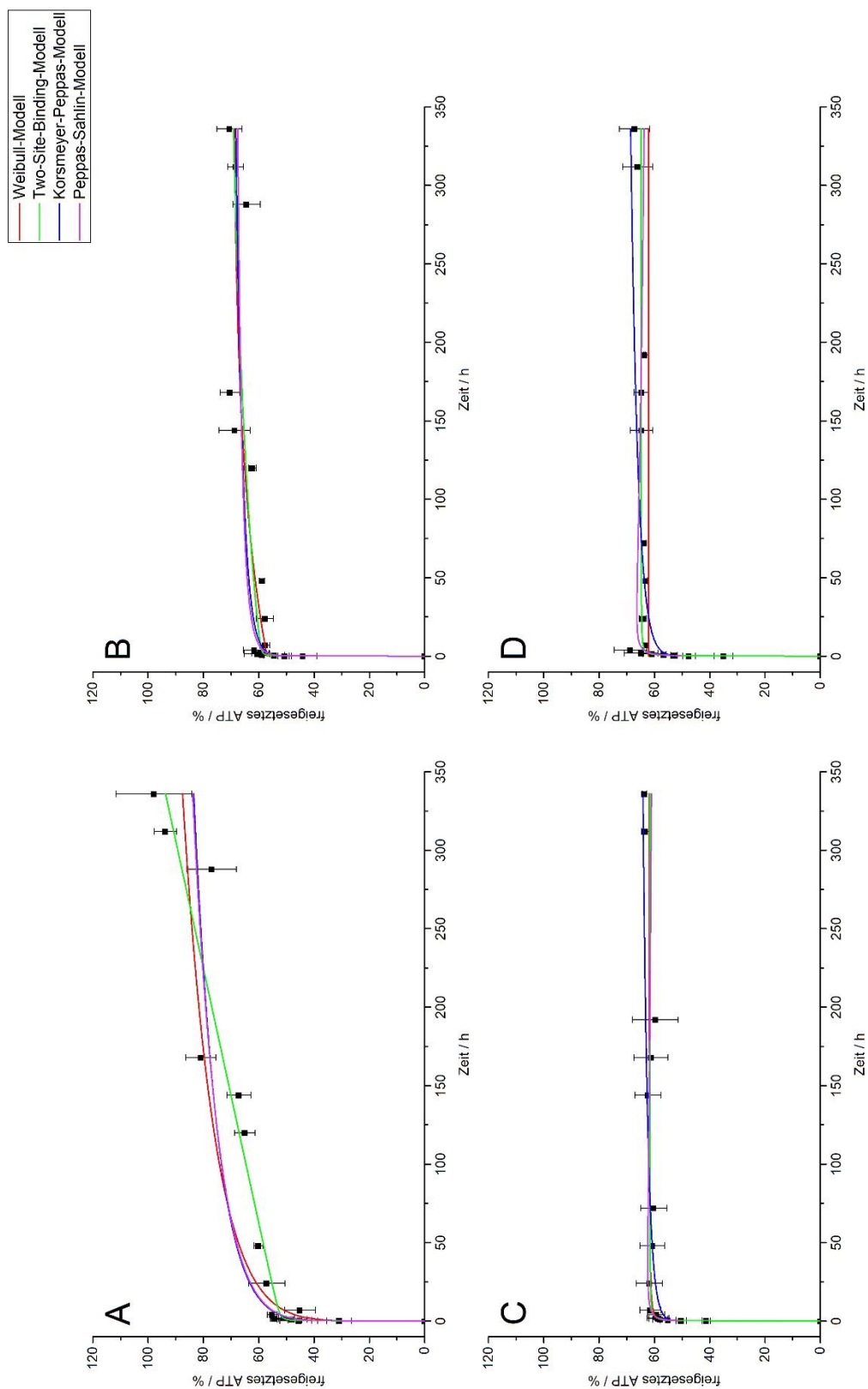


Abbildung 19: Release-Profile der relativen ATP-Freisetzung aus  $\kappa$ -Carr-Kapseln mit (A) null, (B) eine, (C) fünf und (D) zehn LbL-Beschichtungen mit CS und LS

#### 4.4.2 Suramin-Release

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Release-Profile von Suramin aus den Alginat- bzw.  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln mit unterschiedlicher LbL-Beschichtung präsentiert und diskutiert. Hierfür wurden wie auch bei ATP für jeden Release-Versuch die normierte Freisetzung  $f_n$  sowie die relative Freisetzung  $f_{rel}$  gegen die Zeit grafisch aufgetragen und deren Release-Profile mit den mathematischen Modellen Weibull, Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin sowie Two-Site-Bind beschrieben.

Abbildung 20 zeigt die Release-Profile der normierten Freisetzung Suramins aus Alginat-Kapseln mit je null und fünf Schichten Chitosan und Lignosulfonat. Die Gleichungen sowie Korrelationskoeffizienten  $R^2$  der vier Release-Modelle sind in Tabelle 16 festgehalten. Die vollständigen Werte der Modelle sind im Anhang D gelistet.

Tabelle 16:  $R^2$  der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln

| Modell                  | Gleichung                                                         | Korrelationskoeffizient $R^2$ |        |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|
|                         |                                                                   | 0 LbL                         | 5 LbL  |
| <b>Weibull</b>          | $y = M * (1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}})$                            | 0,9522                        | 0,8556 |
| <b>Korsmeyer-Peppas</b> | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$                                  | 0,8850                        | 0,8576 |
| <b>Peppas-Sahlin</b>    | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m}$                 | 0,9836                        | 0,8980 |
| <b>Two-Site-Bind</b>    | $y = \frac{B_{max1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{max2} * t}{k_2 + t}$ | 0,9513                        | 0,9702 |

Auch hier wird das Release-Verhalten von Suramin aus den Alginat-Kapseln unterschiedlich stark durch Diffusionsprozesse und die Quellung der Polymerketten beeinflusst, was durch die Korrelationskoeffizienten des Peppas-Sahlin- sowie des Two-Site-Bind-Modells festgestellt werden kann.

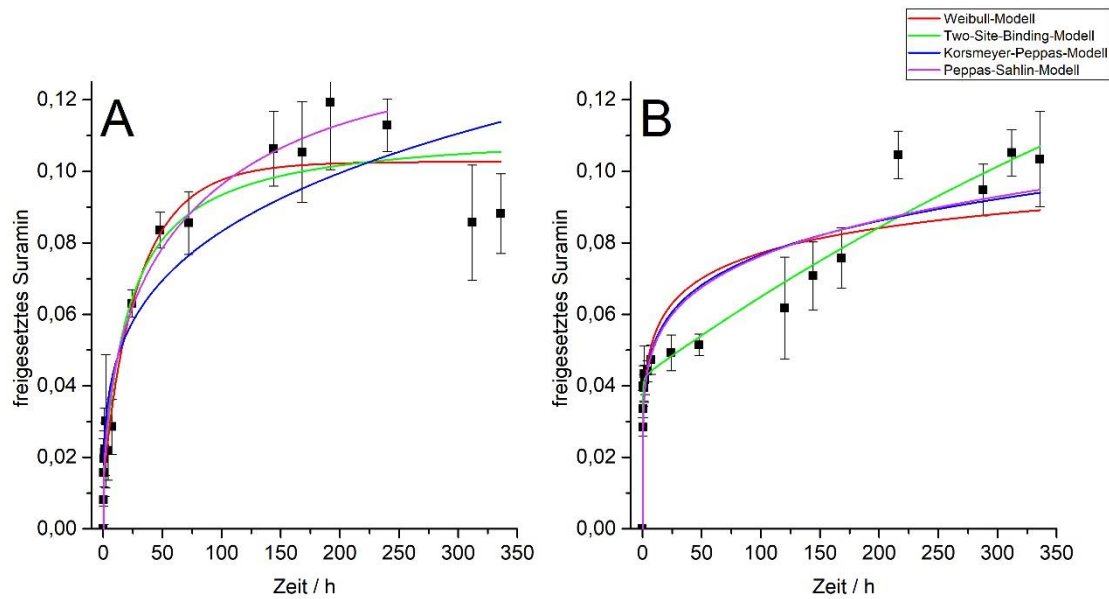


Abbildung 20: Release-Profile der normierten Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln mit (A) null und (B) fünf LbL-Beschichtungen mit CS und LS

Die Freisetzung des Suramins aus den Alginat-Kapseln erfolgt langsamer als die Freisetzung des ATPs. Auch hier findet in den ersten sieben Stunden ein Burst-Release statt, wobei  $f_n$  bei den unbeschichteten als auch den beschichteten Kapseln durch den Burst-Release ca. 0,045 beträgt. Im Rahmen der Unsicherheiten lässt sich durch das Release-Profil der unbeschichteten Alginat-Kapseln der Maximalwert der Suramin-Freisetzung bestimmen. Dieser liegt bei ca. 0,1 und ist nach sechs Tagen erreicht. Bei den mit fünf Layern beschichteten Alginat-Kapseln zeigt sich eine verlangsamte Suramin-Freisetzung nach dem Burst-Release. Hier ist 100 % Suramin erst nach ca. zwei Wochen aus den Kapseln freigesetzt. Mit 0,1 als Maximalwert und denselben Annahmen, die auch bei der Freisetzung ATPs aus den Alginat-Kapseln getroffen wurden, wird für die beiden Release-Versuche  $f_{rel}$  berechnet und grafisch gegen die Zeit aufgetragen (Abbildung 21). Die Korrelationskoeffizienten der vier mathematischen Modelle für den relativen Release sind in Tabelle 17 festgehalten.

Tabelle 17:  $R^2$  der mathematischen Modelle für die Release-Profile der relativen Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln

| Modell           | Gleichung                                                         | Korrelationskoeffizient $R^2$ |        |
|------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|
|                  |                                                                   | 0 LbL                         | 5 LbL  |
| Weibull          | $y = M * (1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}})$                            | 0,9522                        | 0,8556 |
| Korsmeyer-Peppas | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$                                  | 0,8850                        | 0,8576 |
| Peppas-Sahlin    | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m}$                 | 0,9836                        | 0,8980 |
| Two-Site-Bind    | $y = \frac{B_{max1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{max2} * t}{k_2 + t}$ | 0,9513                        | 0,9702 |

Mit den Release-Profilen der relativen Freisetzung Suramins lassen sich dieselben Aussagen treffen wie mit denen der normierten freigesetzten Stoffmenge. Die Werte des Freisetzungsexponenten  $m$  des Peppas-Sahlin-Modells bestätigen die, aus den Release-Profilen erkennbaren, Beobachtungen, da  $m$  mit steigender LbL-Schichtanzahl sinkt: Für die unbeschichteten Kapseln beträgt  $m$   $0,42 \pm 0,04$  und für die Kapseln mit fünf LbL-Schichten  $0,13 \pm 2,15$ .

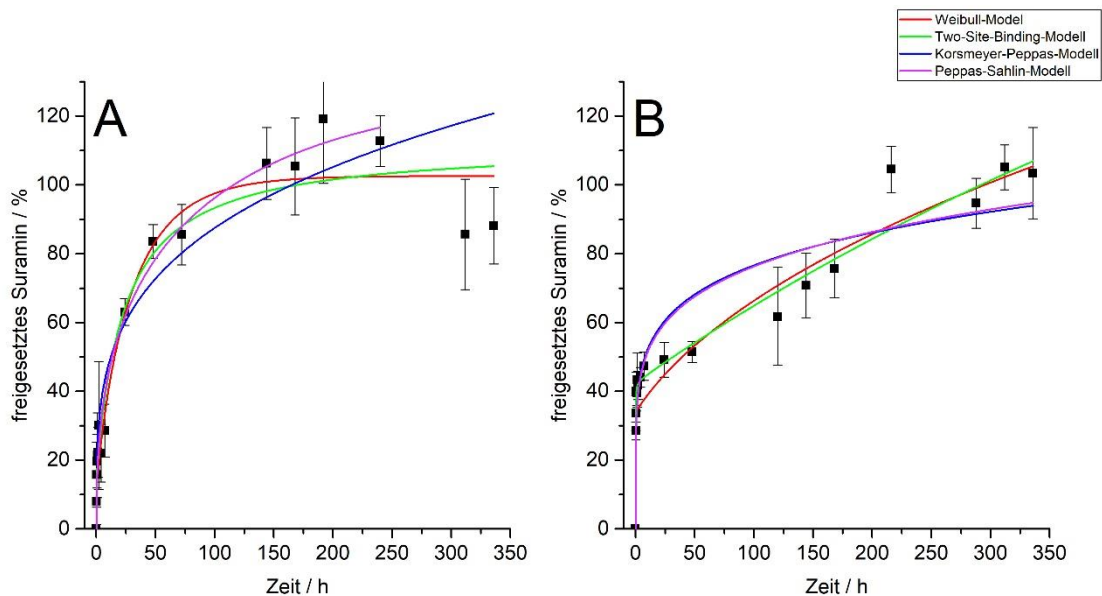


Abbildung 21: Release-Profile der relativen Suraminfreisetzung aus Alg-Kapseln mit (A) null und (B) fünf LbL-Beschichtungen mit CS und LS

Die Release-Profile der normierten Freisetzung Suramins aus den unbeschichteten sowie den mit fünf Layern beschichteten  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln sind in Abbildung 22 dargestellt und die Korrelationskoeffizienten der vier mathematischen Modelle sind in Tabelle 18 gelistet.

Tabelle 18:  $R^2$  der mathematischen Modelle für die Release-Profile der normierten Suraminfreisetzung aus  $\kappa$ -Carr-Kapseln

| Modell                  | Gleichung                                                         | Korrelationskoeffizient $R^2$ |        |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|
|                         |                                                                   | 0 LbL                         | 5 LbL  |
| <b>Weibull</b>          | $y = M * (1 - e^{\frac{-(t-\tau)^b}{a}})$                         | 0,8705                        | 0,9109 |
| <b>Korsmeyer-Peppas</b> | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$                                  | 0,7218                        | 0,9065 |
| <b>Peppas-Sahlin</b>    | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 * t^m + K_2 * t^{2m}$                 | 0,8492                        | 0,9441 |
| <b>Two-Site-Bind</b>    | $y = \frac{B_{max1} * t}{k_1 + t} + \frac{B_{max2} * t}{k_2 + t}$ | 0,8618                        | 0,9379 |

Das Release-Profil Suramins aus den  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln besteht ebenfalls aus einem Burst-Release und einer darauffolgenden kontrollierten Freisetzung. Dabei beträgt  $f_n$  nach den ersten sieben Stunden sowohl bei den unbeschichteten als auch bei den mit fünf Layern beschichteten Kapseln ca. 0,07. Anders als bei den vorherigen Release-Profilen ist hier kein signifikanter Unterschied zwischen den unbeschichteten und den beschichteten Kapseln erkennbar. Der Vergleich der m-Werte des Peppas-Sahlin-Modells lässt sogar eher auf eine beschleunigte Freisetzung mit Erhöhung der LbL-Schichtanzahl schließen, da für die unbeschichteten Kapseln  $m = 0,07 \pm 1,13$  und für die mit fünf Layern beschichteten Kapseln  $0,09 \pm 1,93$ . Zudem lässt sich weder mit bloßen Auge, noch mit dem Weibull-Modell die maximale Suramin-Freisetzung genau bestimmen ( $M = 46 \pm 21 * 10^4$ ), weshalb die Berechnung von  $f_{rel}$  nicht möglich ist. Um eine Aussage über das genaue Release-Verhalten von Suramin aus  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln treffen zu können, müssen die Release-Versuche wiederholt und über einen längeren Zeitraum unter möglichst sterilen Bedingungen durchgeführt werden.

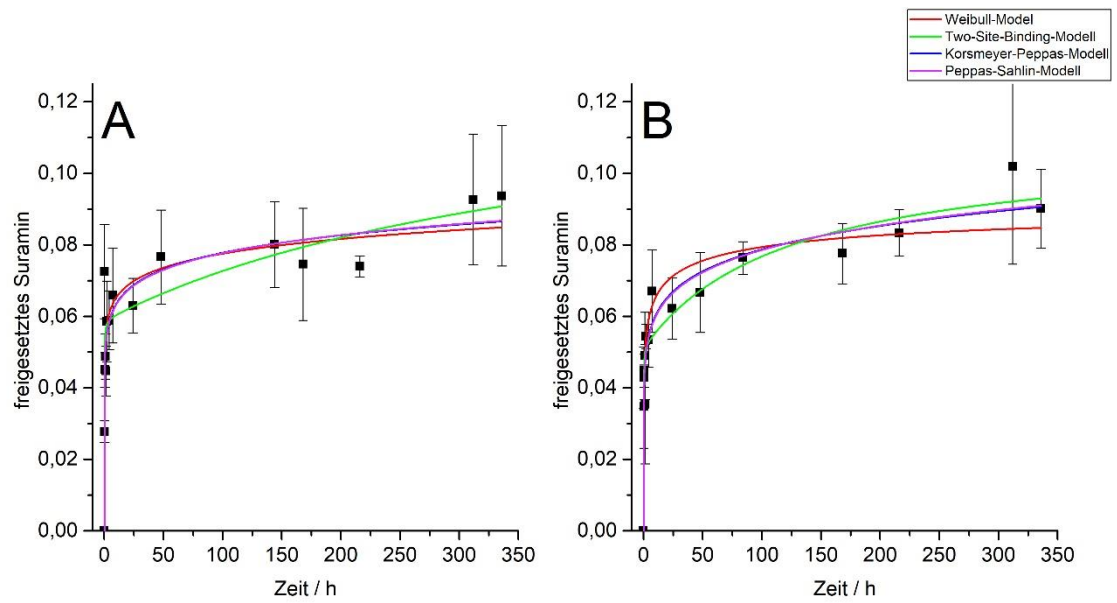


Abbildung 22: Release-Profile der normierten Suraminfreisetzung aus  $\kappa$ -Carr-Kapseln mit (A) null und (B) fünf LbL-Beschichtungen mit CS und LS

## 5 Schlussfolgerung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit konnten ATP bzw. Suramin enthaltende Alginat- sowie  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln durch Anwendung der immersiven LbL-Beschichtungstechnik abwechselnd mit dem Polykation Chitosan und dem Polyanion Lignosulfonat beschichtet werden. Das Freisetzungsverhalten ATPs bzw. Suramins aus den Kapseln konnte anschließend im Hinblick auf Kapselart sowie LbL-Schichtanzahl untersucht und verglichen werden.

Im Hinblick auf die Kapselart konnte gezeigt werden, dass die Freisetzung von ATP als auch von Suramin aus Alginat-Kapseln deutlich schneller erfolgt als aus  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln. Ein möglicher Grund für dieses Phänomen könnte die Art der Gelierung sein. Während die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln vollständig gelieren, härten die Alginat-Kapseln nur außen aus und besitzen weiterhin einen flüssigen Kern. Diffusion kann dementsprechend schneller aus den Alginat-Kapseln als aus den  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln erfolgen.

Chitosan kann durch ionische Gelierung ebenfalls als Verkapselungsmaterial verwendet werden. Soares et al., 2016, konnten z.B. mit Hilfe von Chitosan-Kapseln die Freisetzung von Doxorubicin, ein häufig für die Chemotherapie genutzter Wirkstoff, bei unterschiedlichen pH-Werten untersuchen.<sup>40</sup> Es empfiehlt sich daher das Freisetzungsverhalten ATPs und Suramins ebenfalls aus unbeschichteten sowie beschichteten Chitosan-Kapseln zu analysieren.

Die unterschiedliche Beschichtung der Kapseln zeigt bei den Alginat-Kapseln sowohl für ATP als auch für Suramin eine verzögerte Freisetzung mit Erhöhung der LbL-Schichtanzahl aus Chitosan und Lignosulfonat. Diese Ergebnisse passen zu denen von Wang et al., 2013, die mit Chitosan und Lignosulfonat als Layer-Materialien die Freisetzung des Herbizids Picloram mit steigender Schichtanzahl erfolgreich verzögern konnten.<sup>24</sup> Mit Blick auf aktuelle Literatur lässt sich allgemein die Aussage treffen, dass die LbL-Beschichtung für die Verzögerung der Freisetzung verschiedenster Substanzen verwendet werden kann. Z.B. konnten Silva et al., 2019, die Freisetzung von Diclofenac aus therapeutischen Kontaktlinsen erfolgreich mit der LbL-Technik und Chitosan sowie Alginat als Layer-Materialien verzögern ohne die benötigten Anforderungen an Kontaktlinsen zu beeinträchtigen.<sup>44</sup>

Da der Versuchszeitraum von zwei Wochen für die  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln nicht ausreichend lang genug war, kann mit den Ergebnissen dieser Arbeit keine genaue Aussage für die Verzögerung der ATP- als auch der Suramin-Freisetzung durch LbL-Beschichtung getroffen werden. Daher empfiehlt es sich, die Versuche mit  $\kappa$ -Carrageen-Kapseln mit einem längeren Versuchszeitraum und unter sterilen Bedingungen zu wiederholen, um eine Aussage über das Freisetzungsverhalten ATPs und Suramins bei unterschiedlicher LbL-Beschichtung treffen zu können.

Um die LbL-Beschichtung abzuschließen und eine weitere Barriere für die Wirkstofffreisetzung zu errichten, kann eine Hydrophobierung mit z.B. ionischen Tensiden nach der LbL-Beschichtung in Betracht gezogen und deren Einfluss auf das Freisetzungsverhalten untersucht werden.

Die Optimierung der Vorgehensweise bei der LbL-Beschichtung kann die Arbeit erleichtern und die Reproduzierbarkeit der Freisetzungsversuche verbessern. Eine Möglichkeit der Optimierung besteht darin die Kapseln in einen Filterbeutel zu überführen und diesen abwechselnd in die jeweilige Polyelektrolytlösung einzutauchen, wobei nach jeder Schicht der Filterbeutel mit destilliertem Wasser gewaschen wird. Mit dieser Methode wird die Bildung von Chitosan-Lignosulfonat-Verbindungen bei der LbL-Beschichtung vermieden.



# Literaturverzeichnis

1. Spicer, P. P. *et al.* Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nat. Protoc.* **7**, 1918–1929 (2012).
2. Giannoudis, P. V. & Atkins, R. Management of long-bone non-unions. *Injury* **38**, S1–S2 (2007).
3. Jones, M. C., Gao, H. & Leroux, J. C. Reverse polymeric micelles for pharmaceutical applications. *J. Control. Release* **132**, 208–215 (2008).
4. Yoo, C. Y., Seong, J. S. & Park, S. N. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Preparation of novel capsosome with liposomal core by layer-by-Layer self-assembly of sodium hyaluronate and chitosan. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **144**, 99–107 (2016).
5. Zhang, Z., Zhang, R., Zou, L. & McClements, D. J. Protein encapsulation in alginate hydrogel beads: Effect of pH on microgel stability, protein retention and protein release. *Food Hydrocoll.* **58**, 308–315 (2016).
6. Moya, M. L., Morley, M., Khanna, O., Opara, E. C. & Brey, E. M. Stability of alginate microbead properties in vitro. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **23**, 903–912 (2012).
7. Katuwavila, N. P. *et al.* Chitosan-Alginate Nanoparticle System Efficiently Delivers Doxorubicin to MCF-7 Cells. *J. Nanomater.* **2016**, 1–12 (2016).
8. Natrajan, D., Srinivasan, S., Sundar, K. & Ravindran, A. Formulation of essential oil-loaded chitosan-alginate nanocapsules. *J. Food Drug Anal.* **23**, 560–568 (2015).
9. Lucinda-Silva, R. M., Salgado, H. R. N. & Evangelista, R. C. Alginate-chitosan systems: In vitro controlled release of triamcinolone and in vivo gastrointestinal transit. *Carbohydr. Polym.* **81**, 260–268 (2010).
10. Patel, M. A., AbouGhaly, M. H. H., Schryer-Praga, J. V. & Chadwick, K. The effect of ionotropic gelation residence time on alginate cross-linking and properties. *Carbohydr. Polym.* **155**, 362–371 (2017).
11. Cong, Z. *et al.* A novel controlled drug delivery system based on alginate hydrogel/chitosan micelle composites. *Int. J. Biol. Macromol.* **107**, 855–864 (2018).
12. Mohamadnia, Z., Kabiri, K., Jamshidi, A. & Mobedi, H. Ionically cross-linked carrageenan-alginate hydrogel beads. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **19**, 47–59 (2008).
13. Mahdavinia, G. R., Etemadi, H. & Soleymani, F. Magnetic / pH-responsive beads based on caboxymethyl chitosan and □ -carrageenan and controlled drug release. *Carbohydr. Polym.* **128**, 112–121 (2015).
14. Devi, N. & Maji, T. K. Genipin crosslinked microcapsules of gelatin a and κ-carrageenan polyelectrolyte complex for encapsulation of neem (azadirachta indica a.juss.) seed oil. *Polym. Bull.* **65**, 347–362 (2010).
15. Li, L., Ni, R., Shao, Y. & Mao, S. Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydr. Polym.* **103**, 1–11 (2014).

- 
16. Morris, E. R., Rees, A. & Robinson, G. Cation-specific Aggregation of Carrageenan Hekes : Domain Model of Polymer Gel Structure. *J. Mol. Biol.* **138**, 349–362 (1980).
  17. Keppeler, S., Ellis, A. & Jacquier, J. C. Cross-linked carrageenan beads for controlled release delivery systems. *Carbohydr. Polym.* **78**, 973–977 (2009).
  18. Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M. & Farahmandghavi, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydr. Polym.* **95**, 50–56 (2013).
  19. Zou, Q. *et al.* Modified n-HA/PA66 scaffolds with chitosan coating for bone tissue engineering: cell stimulation and drug release. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **28**, 1271–1285 (2017).
  20. Sreekumar, S., Lemke, P., Moerschbacher, B. M., Torres-Giner, S. & Lagaron, J. M. Preparation and optimization of submicron chitosan capsules by water-based electrospraying for food and bioactive packaging applications. *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **34**, 1795–1806 (2017).
  21. Rinaudo, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci.* **31**, 603–632 (2006).
  22. Shang, C., Chen, Y., Zhang, C., Deng, Z. & Wu, Z. Destruction of chitosan capsules based on host–guest interaction and controllable release of encapsulated dyes. *J. Appl. Polym. Sci.* **134**, 2–9 (2017).
  23. Richardson, J. J. *et al.* Innovation in Layer-by-Layer Assembly. *Chem. Rev.* **116**, 14828–14867 (2016).
  24. Wang, X. & Zhao, J. Encapsulation of the herbicide picloram by using polyelectrolyte biopolymers as layer-by-layer materials. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 3789–3796 (2013).
  25. Ivanova, A. *et al.* Layer-By-Layer Decorated Nanoparticles with Tunable Antibacterial and Antibiofilm Properties against Both Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **10**, 3314–3323 (2018).
  26. Fu, J. & Schlenoff, J. B. Driving Forces for Oppositely Charged Polyion Association in Aqueous Solutions: Enthalpic, Entropic, but Not Electrostatic. *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 980–990 (2016).
  27. Richardson, J. J., Björnmalm, M. & Caruso, F. Technology-driven layer-by-layer assembly of nanofilms. *Science (80-. )*. **348**, (2015).
  28. Joseph, N., Ahmadiannamini, P., Hoogenboom, R. & Vankelecom, I. F. J. Layer-by-layer preparation of polyelectrolyte multilayer membranes for separation. *Polym. Chem.* **5**, 1817–1831 (2014).
  29. Pan, Y. *et al.* Effect of Fully Biobased Coatings Constructed via Layer-by-Layer Assembly of Chitosan and Lignosulfonate on the Thermal, Flame Retardant, and Mechanical Properties of Flexible Polyurethane Foam. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **4**, 1431–1438 (2016).
  30. Silva, D. *et al.* Chitosan/alginate based multilayers to control drug release from ophthalmic lens. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **147**, 81–89 (2016).

- 
31. Vozar, S. *et al.* Automated spin-assisted layer-by-layer assembly of nanocomposites. *Rev. Sci. Instrum.* **80**, (2009).
  32. Kharlampieva, E., Kozlovskaya, V., Chan, J., Ankner, J. F. & Tsukruk, V. V. Spin-assisted layer-by-layer assembly: Variation of stratification as studied with neutron reflectivity. *Langmuir* **25**, 14017–14024 (2009).
  33. Tang, H., Ji, S., Gong, L., Guo, H. & Zhang, G. Tubular ceramic-based multilayer separation membranes using spray layer-by-layer assembly. *Polym. Chem.* **4**, 5621–5628 (2013).
  34. Ye, J. R., Chen, L., Zhang, Y., Zhang, Q. C. & Shen, Q. Turning the chitosan surface from hydrophilic to hydrophobic by layer-by-layer electro-assembly. *RSC Adv.* **4**, 58200–58203 (2014).
  35. Liao, K., Li, P., Chen, G. & Qiu, X. Preparation and release properties of flutoprole-loaded microcapsules with core status of solid particles, solution droplets and oil suspending agent. *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.* **0**, 1–8 (2019).
  36. Qiao, X. G. *et al.* Simple and facile preparation of lignosulfonate-based composite nanoparticles with tunable morphologies: From sphere to vesicle. *Ind. Crops Prod.* **135**, 64–71 (2019).
  37. Bruschi, M. L. *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*. (Woodhead Publishing, 2008).
  38. Sriamornsak, P. & Sungthongjeeh, S. Modification of theophylline release with alginate gel formed in hard capsules. *AAPS PharmSciTech* **8**, E1–E8 (2007).
  39. Siepmann, J. & Siepmann, F. Mathematical modeling of drug delivery. *Int. J. Pharm.* **364**, 328–343 (2008).
  40. Soares, P. I. P. *et al.* Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems for doxorubicin: Optimization and modelling. *Carbohydr. Polym.* **147**, 304–312 (2016).
  41. Tso, S. C. *et al.* Using two-site binding models to analyze microscale thermophoresis data. *Anal. Biochem.* **540–541**, 64–75 (2018).
  42. Wang, Z. X. & Jiang, R. F. A novel two-site binding equation presented in terms of the total ligand concentration. *FEBS Lett.* **392**, 245–249 (1996).
  43. Feuser, D. Etablierung einer koaxialen Sprühanlage zur Verkapselung von Wirkstoffen in Natriumalginat in Chemie mit Materialwissenschaften. (2018).
  44. Silva, D. *et al.* Diclofenac sustained release using an LbL coated silicon based hydrogel. *Ann. Med.* **51**, 104–104 (2019).

# Anhang

## (A) Rohdaten Kalibrationsgeraden

Tabelle 19: Absorptionswerte der Kalibrationsgeraden

| Substanz | Kalibrations-niveaus | Konzentration / $\mu\text{mol L}^{-1}$ | Absorption |       |       |
|----------|----------------------|----------------------------------------|------------|-------|-------|
|          |                      |                                        | 1          | 2     | 3     |
| ATP      | K1                   | 1,09                                   | 0,020      | 0,018 | 0,020 |
|          | K2                   | 5,45                                   | 0,070      | 0,068 | 0,076 |
|          | K3                   | 10,9                                   | 0,136      | 0,137 | 0,141 |
|          | K4                   | 54,5                                   | 0,651      | 0,663 | 0,653 |
|          | K5                   | 81,8                                   | 0,960      | 0,958 | 0,972 |
|          | K6                   | 109                                    | 1,249      | 1,245 | 1,253 |
| Suramin  | K1                   | 0,552                                  | 0,012      | 0,011 | 0,015 |
|          | K2                   | 1,10                                   | 0,023      | 0,021 | 0,021 |
|          | K3                   | 2,76                                   | 0,052      | 0,054 | 0,059 |
|          | K4                   | 5,52                                   | 0,105      | 0,103 | 0,107 |
|          | K5                   | 11,0                                   | 0,207      | 0,208 | 0,210 |
|          | K6                   | 27,6                                   | 0,514      | 0,509 | 0,519 |

(B) Rohdaten der  $\zeta$ -PotentialmessungenTabelle 20: Ergebnisse der  $\zeta$ -Potentialmessungen

| Alginate          |                         |       |       | $\kappa$ -Carrageen |                         |       |       |
|-------------------|-------------------------|-------|-------|---------------------|-------------------------|-------|-------|
| LbL-Schichtanzahl | $\zeta$ -Potential / mV |       |       | LbL-Schichtanzahl   | $\zeta$ -Potential / mV |       |       |
|                   | 1                       | 2     | 3     |                     | 1                       | 2     | 3     |
| 0                 | -7,8                    | -10,3 | -11,8 | 0                   | -29,8                   | -37,9 | -33,3 |
| 0,5               | 1,6                     | 1,4   | 0,9   | 0,5                 | 16,6                    | 16,4  | 12,2  |
| 1                 | -16,4                   | -20   | -20   | 1                   | -35,7                   | -48,3 | -53,4 |
| 1,5               | 17,3                    | 16,8  | 17,8  | 1,5                 | 17,4                    | 18,4  | 16,1  |
| 2                 | -5,5                    | -12,1 | -13,6 | 2                   | -29,2                   | -38,6 | -42,8 |
| 2,5               | 15,6                    | 14,1  | 12,6  | 2,5                 | 18,2                    | 22,7  | 21,5  |
| 3                 | -6,7                    | -11,3 | -16,2 | 3                   | -20,2                   | -27,2 | -29,1 |
| 3,5               | 14,6                    | 14    | 14,3  | 3,5                 | 26,7                    | 32,9  | 37,5  |
| 4                 | -7,4                    | -10,9 | -12,8 | 4                   | -33,6                   | -42,8 | -46,5 |
| 4,5               | 17,6                    | 13,1  | 16    | 4,5                 | 18,2                    | 18,3  | 24,4  |
| 5                 | -17,4                   | -22,5 | -23,8 | 5                   | -27,1                   | -38,6 | -43,7 |
| 5,5               | 10,7                    | 12,4  | 13,6  | 5,5                 | 19,7                    | 20,1  | 24,9  |
| 6                 | -24,5                   | -25,8 | -26,9 | 6                   | -31,6                   | -34,6 | -41,5 |
| 6,5               | 6,6                     | 9,4   | 9,4   | 6,5                 | 22,2                    | 24,5  | 28,8  |
| 7                 | -19,6                   | -24,4 | -25,6 | 7                   | -16,6                   | -36,3 | -38,7 |
| 7,5               | 10,9                    | 12,7  | 18,6  | 7,5                 | 26,5                    | 36    | 35,1  |
| 8                 | -21,8                   | -24,6 | -25,2 | 8                   | -27,8                   | -38,4 | -40,8 |
| 8,5               | 13,5                    | 14,9  | 17,5  | 8,5                 | 28,6                    | 29    | 34,2  |
| 9                 | -24,5                   | -27,1 | -28,1 | 9                   | -38,1                   | -40,4 | -41,8 |
| 9,5               | 12,4                    | 13,2  | 14,4  | 9,5                 | 33,3                    | 34,3  | 36,8  |
| 10                | -25,4                   | -27,4 | -28   | 10                  | -12                     | -28,6 | -33   |

## (C) Rohdaten der Freisetzungsversuche

Tabelle 21: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 0LbL

| Freisetzungsversuch ATP-Alginat 0LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|--------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                             | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                      | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                 | 0,038      | 0,036          | 45,8                 | 0,038      | 0,039          | 49,9                 | 0,044      | 0,038          | 47,6                 |
| 0,25                                 | 0,043      | 0,045          | 57,4                 | 0,044      | 0,051          | 64,5                 | 0,047      | 0,043          | 54,6                 |
| 0,50                                 | 0,044      | 0,049          | 62,0                 | 0,046      | 0,057          | 71,6                 | 0,047      | 0,045          | 57,2                 |
| 1,0                                  | 0,044      | 0,051          | 64,8                 | 0,045      | 0,058          | 72,9                 | 0,048      | 0,048          | 61,4                 |
| 1,5                                  | 0,042      | 0,051          | 63,9                 | 0,045      | 0,060          | 76,1                 | 0,043      | 0,044          | 56,3                 |
| 2,0                                  | 0,040      | 0,050          | 62,9                 | 0,040      | 0,055          | 69,3                 | 0,046      | 0,050          | 63,2                 |
| 4,0                                  | 0,043      | 0,056          | 70,9                 | 0,045      | 0,065          | 82,0                 | 0,047      | 0,053          | 67,3                 |
| 7,0                                  | 0,043      | 0,058          | 73,7                 | 0,040      | 0,059          | 75,2                 | 0,043      | 0,050          | 63,8                 |
| 24                                   | 0,052      | 0,074          | 93,1                 | 0,054      | 0,084          | 106,1                | 0,058      | 0,070          | 89,2                 |
| 168                                  | 0,057      | 0,084          | 105,9                | 0,041      | 0,066          | 84,0                 | 0,066      | 0,083          | 105,1                |
| 192                                  | 0,041      | 0,063          | 80,4                 | 0,041      | 0,069          | 86,8                 | 0,068      | 0,089          | 112,2                |
| 216                                  | 0,057      | 0,089          | 112,5                | 0,047      | 0,080          | 101,7                | 0,060      | 0,082          | 104,1                |
| 240                                  | 0,056      | 0,091          | 114,7                | 0,046      | 0,081          | 103,1                | 0,068      | 0,095          | 120,1                |
| 312                                  | 0,037      | 0,070          | 88,9                 | 0,034      | 0,070          | 88,4                 | 0,048      | 0,076          | 96,7                 |
| 336                                  | 0,039      | 0,075          | 94,8                 | 0,027      | 0,061          | 77,7                 | 0,049      | 0,080          | 101,0                |

Tabelle 22: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 1LbL

| Freisetzungsversuch ATP-Alginat 1LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|--------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                             | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                      | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                 | 0,100      | 0,032          | 40,7                 | 0,059      | 0,026          | 32,7                 | 0,117      | 0,032          | 39,9                 |
| 0,25                                 | 0,125      | 0,043          | 54,4                 | 0,087      | 0,043          | 54,3                 | 0,153      | 0,044          | 55,7                 |
| 0,50                                 | 0,144      | 0,052          | 66,0                 | 0,096      | 0,050          | 63,3                 | 0,172      | 0,052          | 65,7                 |
| 1,0                                  | 0,157      | 0,059          | 75,1                 | 0,104      | 0,057          | 72,0                 | 0,189      | 0,059          | 75,3                 |
| 1,5                                  | 0,163      | 0,064          | 81,3                 | 0,105      | 0,060          | 76,0                 | 0,186      | 0,061          | 77,5                 |
| 2,0                                  | 0,144      | 0,060          | 75,9                 | 0,101      | 0,060          | 76,4                 | 0,182      | 0,063          | 79,3                 |
| 4,0                                  | 0,137      | 0,060          | 75,7                 | 0,101      | 0,063          | 79,5                 | 0,178      | 0,064          | 81,0                 |
| 7,0                                  | 0,135      | 0,061          | 77,7                 | 0,098      | 0,064          | 80,5                 | 0,171      | 0,064          | 81,5                 |
| 24                                   | 0,131      | 0,062          | 78,7                 | 0,094      | 0,064          | 80,7                 | 0,165      | 0,065          | 82,2                 |
| 168                                  | 0,128      | 0,063          | 80,0                 | 0,096      | 0,067          | 85,0                 | 0,138      | 0,059          | 74,8                 |
| 192                                  | 0,151      | 0,074          | 93,5                 | 0,115      | 0,080          | 101,5                | 0,173      | 0,072          | 90,6                 |
| 216                                  | 0,148      | 0,075          | 95,3                 | 0,108      | 0,079          | 100,1                | 0,175      | 0,075          | 94,4                 |
| 240                                  | 0,155      | 0,080          | 101,7                | 0,097      | 0,076          | 95,7                 | 0,185      | 0,080          | 101,4                |
| 312                                  | 0,134      | 0,074          | 93,5                 | 0,088      | 0,073          | 91,8                 | 0,161      | 0,074          | 93,4                 |
| 336                                  | 0,125      | 0,073          | 92,3                 | 0,095      | 0,078          | 99,1                 | 0,148      | 0,072          | 91,4                 |

Tabelle 23: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 5LbL

| Freisetzungsversuch ATP-Alginat 5LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|--------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                             | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                      | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                 | 0,119      | 0,036          | 44,9                 | 0,097      | 0,031          | 38,9                 | 0,125      | 0,036          | 45,8                 |
| 0,25                                 | 0,143      | 0,045          | 57,4                 | 0,127      | 0,043          | 54,7                 | 0,155      | 0,048          | 60,4                 |
| 0,50                                 | 0,165      | 0,055          | 69,5                 | 0,144      | 0,052          | 65,2                 | 0,167      | 0,054          | 68,2                 |
| 1,0                                  | 0,173      | 0,060          | 76,1                 | 0,154      | 0,058          | 72,9                 | 0,174      | 0,059          | 74,3                 |
| 1,5                                  | 0,173      | 0,063          | 79,5                 | 0,154      | 0,060          | 76,2                 | 0,174      | 0,061          | 77,6                 |
| 2,0                                  | 0,167      | 0,063          | 80,3                 | 0,152      | 0,062          | 78,5                 | 0,167      | 0,062          | 78,0                 |
| 4,0                                  | 0,163      | 0,065          | 81,9                 | 0,149      | 0,063          | 80,3                 | 0,162      | 0,062          | 79,1                 |
| 7,0                                  | 0,157      | 0,065          | 82,5                 | 0,146      | 0,065          | 82,1                 | 0,159      | 0,064          | 80,9                 |
| 24                                   | 0,151      | 0,066          | 83,1                 | 0,138      | 0,064          | 81,5                 | 0,152      | 0,064          | 81,0                 |
| 48                                   | 0,145      | 0,066          | 83,4                 | 0,133      | 0,065          | 82,0                 | 0,141      | 0,063          | 79,4                 |
| 192                                  | 0,128      | 0,062          | 79,0                 | 0,131      | 0,066          | 83,9                 | 0,143      | 0,065          | 82,8                 |
| 216                                  | 0,132      | 0,066          | 83,1                 | 0,131      | 0,068          | 86,6                 | 0,159      | 0,073          | 92,0                 |
| 240                                  | 0,145      | 0,072          | 91,2                 | 0,148      | 0,077          | 97,2                 | 0,158      | 0,075          | 94,6                 |
| 264                                  | 0,170      | 0,081          | 102,0                | 0,153      | 0,079          | 100,4                | 0,170      | 0,079          | 100,0                |
| 336                                  | 0,127      | 0,070          | 88,2                 | 0,155      | 0,082          | 104,4                | 0,138      | 0,072          | 90,8                 |

Tabelle 24: Rohdaten der Freisetzungsversuche für ATP-Alginat 10LbL

| Freisetzungsversuch ATP-Alginat 10LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|---------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                              | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                       | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                  | 0,116      | 0,036          | 45,5                 | 0,118      | 0,035          | 44,2                 | 0,135      | 0,035          | 44,7                 |
| 0,25                                  | 0,142      | 0,046          | 58,3                 | 0,147      | 0,045          | 57,5                 | 0,171      | 0,047          | 59,1                 |
| 0,50                                  | 0,157      | 0,053          | 67,1                 | 0,158      | 0,051          | 64,4                 | 0,182      | 0,052          | 65,6                 |
| 1,0                                   | 0,161      | 0,057          | 71,8                 | 0,166      | 0,056          | 70,5                 | 0,191      | 0,057          | 71,7                 |
| 1,5                                   | 0,158      | 0,058          | 73,8                 | 0,166      | 0,058          | 73,6                 | 0,190      | 0,059          | 74,5                 |
| 2,0                                   | 0,153      | 0,059          | 74,9                 | 0,160      | 0,059          | 74,4                 | 0,185      | 0,060          | 76,0                 |
| 4,0                                   | 0,150      | 0,061          | 76,7                 | 0,159      | 0,061          | 77,1                 | 0,181      | 0,061          | 77,7                 |
| 7,0                                   | 0,147      | 0,062          | 78,5                 | 0,155      | 0,062          | 78,5                 | 0,174      | 0,062          | 78,4                 |
| 24                                    | 0,149      | 0,065          | 82,2                 | 0,154      | 0,064          | 81,1                 | 0,177      | 0,065          | 82,3                 |
| 48                                    | 0,146      | 0,066          | 83,9                 | 0,159      | 0,068          | 85,9                 | 0,175      | 0,067          | 84,6                 |
| 192                                   | 0,132      | 0,064          | 81,2                 | 0,145      | 0,066          | 83,5                 | 0,156      | 0,064          | 81,1                 |
| 216                                   | 0,137      | 0,068          | 85,8                 | 0,136      | 0,065          | 82,8                 | 0,159      | 0,067          | 84,7                 |
| 240                                   | 0,125      | 0,066          | 83,6                 | 0,144      | 0,070          | 88,4                 | 0,158      | 0,069          | 87,0                 |
| 264                                   | 0,135      | 0,090          | 113,5                | 0,137      | 0,088          | 111,1                | 0,157      | 0,089          | 112,7                |
| 336                                   | 0,117      | 0,084          | 106,4                | 0,136      | 0,090          | 114,2                | 0,137      | 0,084          | 106,3                |

Tabelle 25: Rohdaten der Freisetzungsversuche für Suramin-Alginat 0LbL

| Freisetzungsversuch Suramin-Alginat 0LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                 | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                          | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                     | 0,005      | 0,005          | 5,1                  | 0,004      | 0,003          | 3,3                  | 0,009      | 0,016          | 15,8                 |
| 0,25                                     | 0,014      | 0,025          | 24,7                 | 0,005      | 0,006          | 5,9                  | 0,009      | 0,017          | 16,6                 |
| 0,50                                     | 0,007      | 0,011          | 10,9                 | 0,013      | 0,026          | 25,6                 | 0,011      | 0,022          | 22,4                 |
| 1,0                                      | 0,016      | 0,031          | 30,8                 | 0,005      | 0,007          | 7,4                  | 0,012      | 0,026          | 25,9                 |
| 1,5                                      | 0,008      | 0,015          | 14,9                 | 0,011      | 0,022          | 22,3                 | 0,013      | 0,030          | 29,6                 |
| 2,0                                      | 0,015      | 0,031          | 30,6                 | 0,006      | 0,011          | 11,2                 | 0,020      | 0,048          | 48,4                 |
| 4,0                                      | 0,010      | 0,021          | 21,2                 | 0,007      | 0,014          | 14,0                 | 0,012      | 0,031          | 30,6                 |
| 7,0                                      | 0,009      | 0,020          | 19,8                 | 0,014      | 0,032          | 31,6                 | 0,013      | 0,034          | 34,2                 |
| 24                                       | 0,027      | 0,059          | 59,3                 | 0,028      | 0,067          | 67,0                 | 0,024      | 0,063          | 63,0                 |
| 48                                       | 0,039      | 0,088          | 87,9                 | 0,034      | 0,085          | 84,7                 | 0,029      | 0,078          | 78,1                 |
| 72                                       | 0,040      | 0,094          | 93,9                 | 0,029      | 0,076          | 76,4                 | 0,031      | 0,086          | 86,4                 |
| 144                                      | 0,049      | 0,117          | 117,4                | 0,036      | 0,097          | 96,6                 | 0,037      | 0,105          | 104,9                |
| 168                                      | 0,044      | 0,112          | 111,6                | 0,042      | 0,115          | 115,3                | 0,029      | 0,089          | 89,2                 |
| 192                                      | 0,035      | 0,113          | 113,2                | 0,040      | 0,140          | 140,1                | 0,029      | 0,104          | 104,2                |
| 240                                      | 0,035      | 0,118          | 117,6                | 0,032      | 0,117          | 116,6                | 0,028      | 0,104          | 104,3                |
| 312                                      | 0,029      | 0,102          | 102,4                | 0,022      | 0,084          | 84,2                 | 0,018      | 0,070          | 70,4                 |
| 336                                      | 0,026      | 0,039          | 38,8                 | 0,025      | 0,098          | 97,7                 | 0,019      | 0,076          | 75,9                 |

Tabelle 26: Rohdaten der Freisetzungsversuche für Suramin-Alginat 5LbL

| Freisetzungsversuch Suramin-Alginat 5LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                 | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                          | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                     | 0,025      | 0,026          | 26,1                 | 0,032      | 0,031          | 31,3                 | 0,033      | 0,028          | 28,1                 |
| 0,25                                     | 0,029      | 0,032          | 32,1                 | 0,038      | 0,039          | 39,2                 | 0,033      | 0,029          | 29,5                 |
| 0,50                                     | 0,031      | 0,036          | 36,0                 | 0,043      | 0,046          | 46,4                 | 0,040      | 0,037          | 37,3                 |
| 1,0                                      | 0,029      | 0,035          | 35,3                 | 0,037      | 0,042          | 42,2                 | 0,042      | 0,041          | 40,9                 |
| 1,5                                      | 0,028      | 0,036          | 35,6                 | 0,044      | 0,051          | 51,5                 | 0,042      | 0,043          | 42,7                 |
| 2,0                                      | 0,028      | 0,037          | 37,1                 | 0,036      | 0,045          | 45,1                 | 0,040      | 0,043          | 42,7                 |
| 4,0                                      | 0,034      | 0,046          | 45,6                 | 0,035      | 0,046          | 45,8                 | 0,036      | 0,041          | 40,7                 |
| 7,0                                      | 0,031      | 0,044          | 43,9                 | 0,039      | 0,052          | 51,8                 | 0,040      | 0,046          | 46,0                 |
| 24                                       | 0,033      | 0,048          | 47,9                 | 0,040      | 0,055          | 54,8                 | 0,037      | 0,045          | 44,9                 |
| 48                                       | 0,032      | 0,049          | 48,5                 | 0,038      | 0,055          | 54,7                 | 0,042      | 0,051          | 51,1                 |
| 120                                      | 0,044      | 0,064          | 64,3                 | 0,055      | 0,075          | 74,7                 | 0,035      | 0,046          | 46,5                 |
| 144                                      | 0,051      | 0,075          | 74,9                 | 0,055      | 0,077          | 77,5                 | 0,048      | 0,060          | 60,0                 |
| 168                                      | 0,056      | 0,084          | 83,5                 | 0,052      | 0,077          | 77,0                 | 0,053      | 0,067          | 66,7                 |
| 216                                      | 0,057      | 0,110          | 109,8                | 0,052      | 0,097          | 97,0                 | 0,069      | 0,107          | 106,8                |
| 288                                      | 0,042      | 0,088          | 87,7                 | 0,053      | 0,102          | 102,1                | 0,057      | 0,094          | 94,4                 |
| 312                                      | 0,046      | 0,098          | 97,7                 | 0,055      | 0,109          | 108,9                | 0,065      | 0,109          | 108,9                |
| 336                                      | 0,042      | 0,094          | 93,9                 | -----      | -----          | -----                | 0,065      | 0,113          | 112,8                |



Tabelle 27: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP-κ-Carrageen 0LbL

| Freisetzungsversuch ATP-κ-Carrageen 0LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                 | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                          | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                     | 0,025      | 0,026          | 25,8                 | 0,029      | 0,034          | 34,3                 | 0,030      | 0,033          | 32,6                 |
| 0,25                                     | 0,034      | 0,047          | 46,8                 | 0,030      | 0,038          | 38,2                 | 0,039      | 0,052          | 51,7                 |
| 0,50                                     | 0,030      | 0,040          | 40,3                 | 0,034      | 0,049          | 48,7                 | 0,035      | 0,046          | 46,4                 |
| 1,0                                      | 0,030      | 0,042          | 42,2                 | 0,035      | 0,053          | 53,1                 | 0,035      | 0,049          | 48,5                 |
| 1,5                                      | 0,035      | 0,055          | 55,0                 | 0,035      | 0,055          | 55,5                 | 0,036      | 0,053          | 52,6                 |
| 2,0                                      | 0,030      | 0,046          | 46,4                 | 0,033      | 0,054          | 53,5                 | 0,035      | 0,053          | 52,8                 |
| 4,0                                      | 0,034      | 0,057          | 57,0                 | 0,032      | 0,053          | 53,5                 | 0,035      | 0,055          | 55,0                 |
| 7,0                                      | 0,027      | 0,044          | 44,0                 | 0,025      | 0,040          | 40,3                 | 0,032      | 0,051          | 51,2                 |
| 24                                       | 0,031      | 0,054          | 54,2                 | 0,030      | 0,052          | 52,5                 | 0,038      | 0,065          | 64,7                 |
| 48                                       | 0,032      | 0,058          | 58,4                 | 0,033      | 0,061          | 60,8                 | 0,035      | 0,061          | 61,3                 |
| 120                                      | 0,035      | 0,067          | 67,0                 | 0,032      | 0,061          | 60,8                 | 0,037      | 0,067          | 67,3                 |
| 144                                      | 0,032      | 0,063          | 62,8                 | 0,034      | 0,067          | 67,2                 | 0,038      | 0,072          | 71,5                 |
| 168                                      | 0,039      | 0,080          | 80,2                 | 0,042      | 0,087          | 86,8                 | 0,039      | 0,076          | 75,9                 |
| 288                                      | 0,031      | 0,073          | 72,7                 | 0,038      | 0,087          | 87,4                 | 0,032      | 0,071          | 71,1                 |
| 312                                      | 0,042      | 0,098          | 97,5                 | 0,040      | 0,094          | 94,4                 | 0,041      | 0,089          | 89,5                 |
| 336                                      | 0,048      | 0,113          | 113,2                | 0,038      | 0,094          | 93,6                 | 0,038      | 0,087          | 87,0                 |

Tabelle 28: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP-κ-Carrageen 1LbL

| Freisetzungsversuch ATP-κ-Carrageen 1LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                 | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                          | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                     | 0,060      | 0,039          | 38,6                 | 0,096      | 0,049          | 48,6                 | 0,076      | 0,045          | 44,9                 |
| 0,25                                     | 0,069      | 0,048          | 48,0                 | 0,096      | 0,051          | 51,0                 | 0,084      | 0,053          | 52,8                 |
| 0,50                                     | 0,071      | 0,052          | 52,0                 | 0,105      | 0,059          | 58,7                 | 0,080      | 0,052          | 52,5                 |
| 1,0                                      | 0,077      | 0,059          | 59,3                 | 0,099      | 0,058          | 57,9                 | 0,086      | 0,059          | 59,2                 |
| 1,5                                      | 0,069      | 0,055          | 55,3                 | 0,105      | 0,064          | 63,9                 | 0,087      | 0,062          | 62,5                 |
| 2,0                                      | 0,067      | 0,056          | 56,0                 | 0,094      | 0,060          | 60,2                 | 0,083      | 0,062          | 62,3                 |
| 4,0                                      | 0,066      | 0,057          | 57,4                 | 0,098      | 0,065          | 64,9                 | 0,080      | 0,063          | 62,6                 |
| 7,0                                      | 0,063      | 0,057          | 57,1                 | 0,085      | 0,060          | 59,7                 | 0,068      | 0,056          | 56,4                 |
| 24                                       | 0,060      | 0,057          | 56,6                 | 0,084      | 0,061          | 61,3                 | 0,064      | 0,056          | 55,5                 |
| 48                                       | 0,060      | 0,059          | 58,6                 | 0,078      | 0,060          | 59,8                 | 0,065      | 0,058          | 58,1                 |
| 120                                      | 0,064      | 0,064          | 63,8                 | 0,078      | 0,062          | 61,7                 | 0,067      | 0,061          | 61,3                 |
| 144                                      | 0,073      | 0,073          | 73,3                 | 0,076      | 0,062          | 62,5                 | 0,077      | 0,070          | 70,4                 |
| 168                                      | 0,071      | 0,074          | 74,2                 | 0,081      | 0,067          | 67,2                 | 0,073      | 0,070          | 69,8                 |
| 288                                      | 0,062      | 0,070          | 70,1                 | 0,067      | 0,062          | 61,5                 | 0,057      | 0,062          | 61,6                 |
| 312                                      | 0,061      | 0,071          | 71,4                 | 0,072      | 0,066          | 65,8                 | 0,064      | 0,068          | 67,9                 |
| 336                                      | 0,061      | 0,073          | 73,4                 | 0,068      | 0,065          | 65,4                 | 0,069      | 0,073          | 73,1                 |

Tabelle 29: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP-κ-Carrageen 5LbL

| Freisetzungsversuch ATP-κ-Carrageen 5LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                 | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                          | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                     | 0,204      | 0,040          | 39,8                 | 0,200      | 0,041          | 41,1                 | 0,161      | 0,043          | 42,8                 |
| 0,25                                     | 0,235      | 0,048          | 48,2                 | 0,240      | 0,052          | 52,0                 | 0,181      | 0,051          | 50,7                 |
| 0,50                                     | 0,241      | 0,052          | 51,8                 | 0,253      | 0,057          | 57,3                 | 0,191      | 0,056          | 56,1                 |
| 1,0                                      | 0,244      | 0,055          | 54,8                 | 0,248      | 0,059          | 58,9                 | 0,196      | 0,060          | 60,1                 |
| 1,5                                      | 0,230      | 0,054          | 54,3                 | 0,243      | 0,060          | 60,4                 | 0,189      | 0,061          | 60,7                 |
| 2,0                                      | 0,219      | 0,054          | 54,2                 | 0,233      | 0,061          | 60,7                 | 0,182      | 0,061          | 61,2                 |
| 4,0                                      | 0,216      | 0,056          | 55,8                 | 0,224      | 0,061          | 61,1                 | 0,173      | 0,061          | 61,1                 |
| 7,0                                      | 0,213      | 0,057          | 57,2                 | 0,221      | 0,063          | 62,8                 | 0,177      | 0,065          | 64,5                 |
| 24                                       | 0,200      | 0,057          | 56,6                 | 0,223      | 0,066          | 65,5                 | 0,165      | 0,063          | 63,4                 |
| 48                                       | 0,186      | 0,056          | 55,6                 | 0,204      | 0,064          | 63,6                 | 0,156      | 0,063          | 63,0                 |
| 72                                       | 0,173      | 0,055          | 54,7                 | 0,191      | 0,063          | 62,9                 | 0,149      | 0,063          | 63,1                 |
| 144                                      | 0,175      | 0,057          | 56,8                 | 0,194      | 0,065          | 65,5                 | 0,147      | 0,064          | 64,4                 |
| 168                                      | 0,154      | 0,054          | 54,1                 | 0,185      | 0,065          | 65,5                 | 0,139      | 0,064          | 64,1                 |
| 192                                      | 0,132      | 0,050          | 50,3                 | 0,174      | 0,064          | 63,6                 | 0,141      | 0,065          | 65,3                 |
| 312                                      | 0,336      | 0,091          | 91,1                 | 0,160      | 0,062          | 62,4                 | 0,131      | 0,064          | 64,4                 |
| 336                                      | 0,515      | 0,129          | 129,1                | 0,161      | 0,064          | 64,1                 | 0,12       | 0,063          | 63,0                 |

Tabelle 30: Rohdaten der Freisetzungsversuche ATP-κ-Carrageen 10LbL

| Freisetzungsversuch ATP-κ-Carrageen 10LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|-------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                  | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                           | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                      | 0,194      | 0,037          | 37,2                 | 0,173      | 0,037          | 36,8                 | 0,164      | 0,031          | 31,0                 |
| 0,25                                      | 0,243      | 0,049          | 49,2                 | 0,215      | 0,048          | 48,3                 | 0,224      | 0,045          | 45,0                 |
| 0,50                                      | 0,256      | 0,054          | 54,2                 | 0,222      | 0,052          | 52,2                 | 0,249      | 0,052          | 52,3                 |
| 1,0                                       | 0,258      | 0,057          | 57,1                 | 0,226      | 0,056          | 55,6                 | 0,260      | 0,057          | 57,0                 |
| 1,5                                       | 0,255      | 0,059          | 59,0                 | 0,230      | 0,059          | 58,9                 | 0,285      | 0,065          | 64,7                 |
| 2,0                                       | 0,253      | 0,061          | 61,1                 | 0,275      | 0,072          | 71,8                 | 0,255      | 0,061          | 61,3                 |
| 4,0                                       | 0,245      | 0,062          | 61,9                 | 0,263      | 0,072          | 72,0                 | 0,296      | 0,072          | 72,2                 |
| 7,0                                       | 0,234      | 0,062          | 62,1                 | 0,216      | 0,064          | 64,1                 | 0,236      | 0,063          | 62,8                 |
| 24                                        | 0,231      | 0,064          | 63,7                 | 0,202      | 0,063          | 63,2                 | 0,239      | 0,066          | 65,7                 |
| 48                                        | 0,214      | 0,062          | 62,5                 | 0,193      | 0,063          | 63,3                 | 0,217      | 0,063          | 63,5                 |
| 72                                        | 0,208      | 0,063          | 63,3                 | 0,184      | 0,063          | 63,3                 | 0,214      | 0,065          | 65,0                 |
| 144                                       | 0,193      | 0,062          | 62,2                 | 0,171      | 0,062          | 62,3                 | 0,225      | 0,069          | 69,3                 |
| 168                                       | 0,186      | 0,063          | 62,6                 | 0,169      | 0,064          | 63,6                 | 0,207      | 0,068          | 67,8                 |
| 192                                       | 0,188      | 0,063          | 63,3                 | 0,168      | 0,064          | 63,8                 | 0,185      | 0,064          | 63,8                 |
| 312                                       | 0,226      | 0,072          | 72,3                 | 0,157      | 0,063          | 63,2                 | 0,171      | 0,063          | 62,8                 |
| 336                                       | 0,221      | 0,073          | 73,4                 | 0,158      | 0,065          | 65,0                 | 0,165      | 0,063          | 63,2                 |

Tabelle 31: Rohdaten der Freisetzungsversuche Suramin- $\kappa$ -Carrageen 0LbL

| Freisetzungsversuch Suramin- $\kappa$ -Carrageen 0LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|-------------------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                              | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                                       | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                                  | 0,013      | 0,025          | ----                 | 0,016      | 0,028          | ----                 | 0,015      | 0,031          | ----                 |
| 0,25                                                  | 0,028      | 0,062          | ----                 | 0,035      | 0,069          | ----                 | 0,037      | 0,087          | ----                 |
| 0,50                                                  | 0,022      | 0,051          | ----                 | 0,021      | 0,043          | ----                 | 0,017      | 0,042          | ----                 |
| 1,0                                                   | 0,023      | 0,055          | ----                 | 0,020      | 0,043          | ----                 | 0,019      | 0,048          | ----                 |
| 1,5                                                   | 0,016      | 0,041          | ----                 | 0,024      | 0,053          | ----                 | 0,015      | 0,040          | ----                 |
| 2,0                                                   | 0,023      | 0,059          | ----                 | 0,031      | 0,070          | ----                 | 0,017      | 0,047          | ----                 |
| 4,0                                                   | 0,020      | 0,055          | ----                 | 0,029      | 0,068          | ----                 | 0,019      | 0,054          | ----                 |
| 7,0                                                   | 0,028      | 0,076          | ----                 | 0,029      | 0,071          | ----                 | 0,017      | 0,051          | ----                 |
| 24                                                    | 0,019      | 0,057          | ----                 | 0,028      | 0,072          | ----                 | 0,020      | 0,060          | ----                 |
| 48                                                    | 0,028      | 0,081          | ----                 | 0,022      | 0,062          | ----                 | 0,030      | 0,087          | ----                 |
| 144                                                   | 0,021      | 0,067          | ----                 | 0,031      | 0,083          | ----                 | 0,030      | 0,091          | ----                 |
| 168                                                   | 0,022      | 0,072          | ----                 | 0,019      | 0,061          | ----                 | 0,029      | 0,091          | ----                 |
| 216                                                   | 0,023      | 0,076          | ----                 | 0,023      | 0,071          | ----                 | 0,021      | 0,075          | ----                 |
| 312                                                   | 0,031      | 0,111          | ----                 | 0,028      | 0,092          | ----                 | 0,020      | 0,075          | ----                 |
| 336                                                   | 0,019      | 0,072          | ----                 | 0,029      | 0,098          | ----                 | 0,029      | 0,111          | ----                 |

Tabelle 32: Rohdaten der Freisetzungsversuche Suramin- $\kappa$ -Carrageen 5LbL

| Freisetzungsversuch Suramin- $\kappa$ -Carrageen 5LbL |            |                |                      |            |                |                      |            |                |                      |
|-------------------------------------------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| Zeit / h                                              | 1          |                |                      | 2          |                |                      | 3          |                |                      |
|                                                       | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % | Absorption | f <sub>n</sub> | f <sub>rel</sub> / % |
| 0,08                                                  | 0,017      | 0,021          | ----                 | 0,033      | 0,043          | ----                 | 0,033      | 0,040          | ----                 |
| 0,25                                                  | 0,032      | 0,045          | ----                 | 0,025      | 0,033          | ----                 | 0,039      | 0,050          | ----                 |
| 0,50                                                  | 0,027      | 0,039          | ----                 | 0,034      | 0,048          | ----                 | 0,035      | 0,047          | ----                 |
| 1,0                                                   | 0,026      | 0,040          | ----                 | 0,030      | 0,044          | ----                 | 0,045      | 0,063          | ----                 |
| 1,5                                                   | 0,010      | 0,018          | ----                 | 0,024      | 0,038          | ----                 | 0,034      | 0,051          | ----                 |
| 2,0                                                   | 0,035      | 0,055          | ----                 | 0,032      | 0,050          | ----                 | 0,037      | 0,057          | ----                 |
| 4,0                                                   | 0,037      | 0,061          | ----                 | 0,027      | 0,045          | ----                 | 0,033      | 0,054          | ----                 |
| 7,0                                                   | 0,048      | 0,080          | ----                 | 0,039      | 0,064          | ----                 | 0,034      | 0,057          | ----                 |
| 24                                                    | 0,036      | 0,065          | ----                 | 0,029      | 0,053          | ----                 | 0,041      | 0,069          | ----                 |
| 48                                                    | 0,028      | 0,056          | ----                 | 0,046      | 0,078          | ----                 | 0,037      | 0,066          | ----                 |
| 84                                                    | 0,040      | 0,076          | ----                 | 0,046      | 0,081          | ----                 | 0,040      | 0,072          | ----                 |
| 168                                                   | 0,035      | 0,071          | ----                 | 0,048      | 0,087          | ----                 | 0,040      | 0,075          | ----                 |
| 216                                                   | 0,044      | 0,087          | ----                 | 0,046      | 0,087          | ----                 | 0,039      | 0,076          | ----                 |
| 312                                                   | 0,055      | 0,133          | ----                 | 0,047      | 0,092          | ----                 | 0,041      | 0,081          | ----                 |
| 336                                                   | 0,038      | 0,100          | ----                 | 0,045      | 0,092          | ----                 | 0,037      | 0,078          | ----                 |

## (D) Werte der Freisetzungsmodelle

Tabelle 33: Werte der Freisetzungsmodelle Weibull und Korsmeyer-Peppas

| Modell           | Gleichung                              | Schichtanzahl | Werte | Alg-ATP-norm                                | Alg-ATP-norm-relativ         | Carr-ATP-norm                 | Carr-ATP-norm-relativ      | Alg-SU-norm                 | Alg-SU-norm-relativ      | Carr-SU-norm                 | Carr-SU-norm-relativ                  |
|------------------|----------------------------------------|---------------|-------|---------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| Weibull          | $y = M * (1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}})$ | 0             | M     | 0,08 ± 0,02                                 | 99 ± 3                       | 0,09 ± 0,06                   | 3,6 ± 3,055                | 0,10 ± 0,01                 | 103 ± 5                  | 46 ± 2*10 <sup>5</sup>       | 4*10 <sup>5</sup> ± 2*10 <sup>5</sup> |
|                  |                                        |               | TI    | 5,13*10 <sup>-6</sup> ± 0,19                | -29 ± 78                     | 5,25*10 <sup>-7</sup> ± 0,298 | 182*10 <sup>6</sup> ± 0,35 | -2,9 ± 4,2                  | -29 ± 182                | 0,08 ± 4,5*10 <sup>-4</sup>  | 0,08 ± 4,5*10 <sup>-4</sup>           |
|                  |                                        |               | a     | 1,04 ± 0,28                                 | 558 ± 1,16*10 <sup>5</sup>   | 1,5 ± 1,3                     | 8 ± 80                     | 19 ± 26                     | 19 ± 26                  | 839 ± 4*10 <sup>6</sup>      | 1021 ± 6*10 <sup>6</sup>              |
|                  |                                        |               | b     | 0,19 ± 0,11                                 | 2 ± 48                       | 0,17 ± 0,16                   | 0,16 ± 0,20                | 0,87 ± 0,37                 | 0,87 ± 0,37              | 0,07 ± 0,24                  | 0,07 ± 0,24                           |
|                  |                                        | 1             | M     | 0,20 ± 5,51                                 | 469 ± 16667                  | 0 ± 17                        | 69 ± 8                     | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | TI    | 0,25 ± 0,01                                 | 0,25 ± 4,28*10 <sup>-4</sup> | 0,08 ± 120*10 <sup>-4</sup>   | 246 ± 8321                 | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | a     | 3 ± 96                                      | 6 ± 228                      | 6 ± 294                       | 481 ± 156*10 <sup>6</sup>  | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | b     | 0,05 ± 0,14                                 | 0,05 ± 0,19                  | 0,03 ± 0,17                   | 1 ± 52                     | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        | 5             | M     | 0,08 ± 0,44                                 | 1904 ± 4,87*10 <sup>5</sup>  | 0,06 ± 4,06*10 <sup>-4</sup>  | 62 ± 1                     | 0,12 ± 0,10                 | 5293 ± 3*10 <sup>6</sup> | 0,09 ± 0,02                  | 99 ± 117                              |
|                  |                                        |               | TI    | -765 ± 22984                                | 0,25 ± 4,33*10 <sup>-4</sup> | 0,05 ± 0,03                   | 0,20 ± 0,07                | 4,2*10 <sup>-6</sup> ± 0,33 | -29 ± 182                | 2,55*10 <sup>-7</sup> ± 0,22 | 7,74*10 <sup>-6</sup> ± 0,23          |
|                  |                                        |               | a     | 2,97*10 <sup>5</sup> ± 2,34*10 <sup>8</sup> | 25 ± 6533                    | 0,37 ± 0,02                   | 0,36 ± 0,03                | 2,8 ± 2,7                   | 700 ± 3*10 <sup>6</sup>  | 129 ± 0,44                   | 2,2 ± 3,1                             |
|                  |                                        |               | b     | 2 ± 109                                     | 0,04 ± 0,22                  | 0,27 ± 0,06                   | 0,16 ± 0,07                | 0,24 ± 0,17                 | 0,5 ± 2,0                | 0,21 ± 0,12                  | 0,16 ± 0,13                           |
|                  |                                        | 10            | M     | 1 ± 34                                      | 3167 ± 9,29*10 <sup>5</sup>  | 0,07 ± 6,50*10 <sup>-4</sup>  | 62 ± 2                     | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | TI    | 0,08 ± 0,00                                 | 0,08 ± 0,00                  | 6,50*10 <sup>-77</sup> ± 0,06 | -28 ± 0                    | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | a     | 11 ± 617                                    | 45 ± 8417                    | 0,42 ± 0,04                   | 2,1 ± 0,0                  | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | b     | 0,06 ± 0,20                                 | 0,06 ± 0,22                  | 0,46 ± 0,12                   | 13 ± 0,0                   | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
| Korsmeyer-Peppas | $\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n$       | 0             | K     | 0,05 ± 0,00                                 | 65 ± 6                       | 0,05 ± 0,00                   | 45 ± 3                     | 0,03 ± 0,01                 | 28 ± 4                   | 0,05 ± 0,00                  | 40 ± 3                                |
|                  |                                        |               | n     | 0,08 ± 0,01                                 | 0,08 ± 0,01                  | 0,11 ± 0,01                   | 0,11 ± 0,01                | 0,26 ± 0,04                 | 0,27 ± 0,29              | 0,09 ± 0,02                  | 0,09 ± 0,02                           |
|                  |                                        | 1             | K     | 0,05 ± 0,00                                 | 67 ± 3                       | 0,06 ± 0,00                   | 55 ± 1                     | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | n     | 0,06 ± 0,01                                 | 0,06 ± 0,01                  | 0,04 ± 0,01                   | 0,04 ± 0,01                | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        | 5             | K     | 0,05 ± 0,00                                 | 69 ± 3                       | 0,06 ± 0,00                   | 55 ± 1                     | 0,04 ± 0,00                 | 35 ± 4                   | 0,05 ± 0,00                  | 36 ± 2                                |
|                  |                                        |               | n     | 0,06 ± 0,01                                 | 0,06 ± 0,01                  | 0,03 ± 0,01                   | 0,03 ± 0,01                | 0,7 ± 0,02                  | 0,7 ± 0,02               | 0,12 ± 0,01                  | 0,12 ± 0,01                           |
|                  |                                        | 10            | K     | 0,05 ± 0,00                                 | 67 ± 3                       | 0,06 ± 0,00                   | 1055 ± 2                   | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |
|                  |                                        |               | n     | 0,07 ± 0,01                                 | 0,07 ± 0,01                  | 0,04 ± 0,01                   | 0,04 ± 0,01                | -----                       | -----                    | -----                        | -----                                 |

Tabelle 34: Werte der Freisetzungsmodelle Peppas-Sahlin und Two-Site-Bind

| Modell        | Gleichung                                                                 | Schichtanzahl | Werte | Alg-ATP-norm                                   | Alg-ATP-norm-relativ                            | Carr-ATP-norm          | Carr-ATP-norm-relativ  | Alg-SU-norm                                    | Alg-SU-norm-relativ | Carr-SU-norm | Carr-SU-norm-relativ |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------------------------------|---------------------|--------------|----------------------|
| Peppas-Sahlin | $\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 \cdot t^m + K_2 \cdot t^{2m}$                 | 0             | K1    | 0,06 ± 0,00                                    | 85 ± 4                                          | 0,03 ± 0,172           | 33 ± 0,702             | 0,02 ± 0,00                                    | 19 ± 2              | 0,04 ± 0,103 | 31 ± 784             |
|               |                                                                           |               | K2    | -0,01 ± 0,00                                   | -7 ± 2                                          | 0,01 ± 0,172           | 12 ± 0,700             | -7,38*10 <sup>-3</sup> ± 1,62*10 <sup>-2</sup> | -0,74 ± 0,16        | 0,01 ± 0,103 | 9 ± 784              |
|               |                                                                           |               | m     | 0,02 ± 0,03                                    | 0,16 ± 0,03                                     | 0,08 ± 2,44            | 0,08 ± 2,42            | 0,42 ± 0,04                                    | 0,42 ± 0,04         | 0,07 ± 1,15  | 0,07 ± 1,13          |
|               |                                                                           | 1             | K1    | 0,07 ± 0,00                                    | 88 ± 5                                          | 0,08 ± 0,01            | 76 ± 8                 | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | K2    | -0,02 ± 0,00                                   | -21 ± 2                                         | -0,02 ± 0,01           | -20 ± 8                | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | m     | 0,15 ± 0,03                                    | 0,15 ± 0,03                                     | 0,07 ± 0,04            | 0,07 ± 0,04            | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           | 5             | K1    | 0,07 ± 0,00                                    | 92 ± 5                                          | 0,08 ± 0,00            | 163 ± 2                | 0,03 ± 0,73                                    | 26 ± 729            | 0,03 ± 0,131 | 26 ± 985             |
|               |                                                                           |               | K2    | -0,02 ± 0,00                                   | -23 ± 3                                         | -0,03 ± 0,00           | -106 ± 3               | 0,01 ± 0,73                                    | 9 ± 728             | 0,01 ± 0,131 | 10 ± 985             |
|               |                                                                           |               | m     | 0,13 ± 0,03                                    | 0,13 ± 0,03                                     | 0,11 ± 0,01            | -0,07 ± 0,01           | 0,13 ± 2,15                                    | 0,13 ± 2,15         | 0,09 ± 1,97  | 0,09 ± 1,93          |
|               |                                                                           | 10            | K1    | 0,07 ± 0,01                                    | 85 ± 11                                         | 0,08 ± 0,00            | 179 ± 3                | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | K2    | -0,01 ± 0,01                                   | -8 ± 9                                          | -0,02 ± 0,00           | -121 ± 4               | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | m     | 0,11 ± 0,05                                    | 0,11 ± 0,05                                     | 0,14 ± 0,02            | -0,09 ± 0,01           | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
| Two-Site-Bind | $y = \frac{B_{max1} \cdot t}{K_1 + t} + \frac{B_{max2} \cdot t}{K_2 + t}$ | 0             | Bmax1 | 0,05 ± 0,01                                    | 63 ± 6                                          | 0,05 ± 0,00            | 52 ± 2                 | 0,02 ± 0,01                                    | 96 ± 8              | 0,06 ± 0,01  | 55 ± 80              |
|               |                                                                           |               | Bmax2 | 0,03 ± 0,01                                    | 38 ± 6                                          | 2,23*10 <sup>-11</sup> | 5,44*10 <sup>9</sup>   | 0,10 ± 0,01                                    | 16 ± 7              | 0,07 ± 0,10  | 45 ± 4               |
|               |                                                                           |               | k1    | 0,024 ± 0,02                                   | 0,02 ± 0,02                                     | 0,05 ± 0,02            | 0,05 ± 0,02            | 0,05 ± 0,15                                    | 24 ± 11             | 0,05 ± 0,04  | 421 ± 123            |
|               |                                                                           | 1             | k2    | 10,7 ± 8,2                                     | 11 ± 8                                          | 18*10 <sup>-15</sup>   | 4,42*10 <sup>-10</sup> | 24 ± 11                                        | 0,05 ± 0,15         | 421 ± 1024   | 0,05 ± 0,04          |
|               |                                                                           |               | Bmax1 | 0,03 ± 0,06                                    | 40 ± 69                                         | 0,02 ± 0,02            | 19 ± 15                | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | Bmax2 | 0,06 ± 0,00                                    | 81 ± 2                                          | 0,06 ± 0,00            | 59 ± 1                 | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           | 5             | k1    | 525 ± 1391                                     | 525 ± 1391                                      | 286 ± 446              | 286 ± 446              | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | k2    | 0,10 ± 0,02                                    | 0,10 ± 0,02                                     | 0,03 ± 0,01            | 0,03 ± 0,01            | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | Bmax1 | 2,23*10 <sup>-2</sup>                          | 81 ± 2                                          | 0,01 ± 0,01            | 55 ± 7                 | 0,04 ± 0,00                                    | 43 ± 3              | 0,06 ± 0,02  | 40 ± 3               |
|               |                                                                           | 10            | Bmax2 | 0,06 ± 0,00                                    | 1,10*10 <sup>-15</sup> ± 107*10 <sup>-25</sup>  | 0,06 ± 0,01            | 7 ± 7                  | 0,32 ± 0,33                                    | 317 ± 325           | 0,05 ± 0,00  | 44 ± 11              |
|               |                                                                           |               | k1    | 6,44*10 <sup>-6</sup>                          | 0,08 ± 0,01                                     | 0,73 ± 0,13            | 0,03 ± 0,01            | 0,05 ± 0,03                                    | 0,05 ± 0,03         | 125 ± 98     | 0,05 ± 0,03          |
|               |                                                                           |               | k2    | 0,08 ± 0,01                                    | 2,40*10 <sup>-16</sup> ± 2,33*10 <sup>-33</sup> | 0,03 ± 0,01            | 0,07 ± 11              | 1320 ± 1665                                    | 1319 ± 1664         | 0,05 ± 0,03  | 125 ± 98             |
|               |                                                                           | 1             | Bmax1 | 0,06 ± 0,00                                    | 77 ± 3                                          | 0,03                   | 32 ± 4*10 <sup>7</sup> | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | Bmax2 | 1,1*10 <sup>-13</sup> ± 2,10*10 <sup>-33</sup> | 102*10 <sup>-16</sup>                           | 0,03                   | 32 ± 4*10 <sup>7</sup> | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           | 10            | k1    | 0,07 ± 0,02                                    | 0,07 ± 0,02                                     | 0 ± 33801              | 0 ± 92317              | -----                                          | -----               | -----        | -----                |
|               |                                                                           |               | k2    | 180*10 <sup>-17</sup> ± 3,40*10 <sup>-34</sup> | 13*10 <sup>-17</sup>                            | 0 ± 33801              | 0 ± 92317              | -----                                          | -----               | -----        | -----                |